

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

ALINE BENJAMIN

**LAM ASSOCIADO À BACILOSCOPIA PARA DETECÇÃO PRECOCE DE CASOS
DE TUBERCULOSE NA ROTINA CLÍNICA DE PACIENTES COM TUBERCULOSE
ASSOCIADA AO HIV E IMUNODEFICIÊNCIA AVANÇADA**

Rio de Janeiro

2021

ALINE BENJAMIN

**LAM ASSOCIADO À BACILOSCOPIA PARA DETECÇÃO PRECOCE DE CASOS
DE TUBERCULOSE NA ROTINA CLÍNICA DE PACIENTES COM TUBERCULOSE
ASSOCIADA AO HIV E IMUNODEFICIÊNCIA AVANÇADA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, para obtenção do grau de Doutora em Ciências, sob a orientação da Dr.^a Valeria Cavalcanti Rolla e Dr.^a Solange Cesar Cavalcante

Rio de Janeiro

2021

ALINE BENJAMIN

**LAM ASSOCIADO À BACILOSCOPIA PARA DETECÇÃO PRECOCE DE CASOS
DE TUBERCULOSE NA ROTINA CLÍNICA DE PACIENTES COM TUBERCULOSE
ASSOCIADA AO HIV E IMUNODEFICIÊNCIA AVANÇADA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, para obtenção do grau de Doutora em Ciências.

Orientadores: Dr.^a Valeria Cavalcanti Rolla

Dr.^a Solange Cesar Cavalcante

BANCA EXAMINADORA

Dr.^a Carolina Arana Stanis Schmaltz (Presidente)
Fundação Oswaldo Cruz

Dr.^a Margareth M Pretti Dalcolmo
Fundação Oswaldo Cruz

Dr.^a Maria Clara Gutierrez Galhardo
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr.^a Carmem Beatriz Wagner Giacoia Gripp
Fundação Oswaldo Cruz

Dr. Adriano Gomes da Silva
Fundação Oswaldo Cruz

Dr.^a Sandra Wagner Cardoso (Suplente)
Fundação Oswaldo Cruz

*Aos pacientes e aos profissionais que acreditam e se dedicam à saúde pública
gratuita, de qualidade, universal e equânime.*

AGRADECIMENTOS

À minha família de origem, pais e irmãs, que formaram minha base com amor, honestidade, generosidade e força.

Ao meu esposo Sérgio, alicerce emocional da nossa família, nosso porto seguro. Não tenho palavras para agradecer todo o apoio e força que recebi todos esses anos, especialmente durante o doutorado. É bom construir a vida ao lado de alguém que diz “Vai que eu estou aqui”.

Aos meus maiores e mais desafiadores projetos da vida, Lorenzo e Betina. É por eles e para eles que tento ser uma pessoa melhor a cada dia. Desculpo-me pelas ausências durante essa fase, mas agradeço por, sem nem saberem, proverem-me forças para continuar.

Às minhas orientadoras Valeria e Solange, exemplos de profissionais e mulheres incríveis, cada uma a seu modo. Além do ofício, com elas aprendi lições para a vida. À Solange, calma, clara e objetiva, agradeço por acreditar em mim, pelo apoio recebido e por ser uma inspiração de autocuidado para mim. À Valeria, potente, forte e encorajadora, agradeço toda a confiança, parceria no trabalho e toda a compreensão nos meus momentos difíceis. Valeria é um exemplo de liderança baseada na paixão pelo trabalho e respeito pela individualidade.

A toda equipe do LAPCLIN-TB, de antes e de agora: Isabella Vargas, Fernanda Demitto, Clarissa de Assumpção, Quezia Medeiros, Marcella Belém, Aline Santos, Renata Marialva, Francine Ignácio, Naíse Nunes, Ivan Maia, Adriano Gomes, Felipe Ridolfi, Carolina Arana e Fernando Maior. Um agradecimento carinhoso à Flavia Marinho, também colega de doutorado, pela troca, conselhos e incentivo. Trabalhar com pessoas tão especiais e dedicadas fez o caminho ser mais leve. Quero ressaltar aqui meu agradecimento às mulheres-mães dessa equipe que sempre me deram apoio, seja emocional ou profissional, durante esse percurso: “Companheira me ajuda, que eu não posso andar só, eu sozinha ando bem, mas com você ando melhor”.

Às minhas amigas-mães-vizinhas, Michelle Morata, Simone Bastos, Verônica Schmitz e Linda Madruga, por tanta troca, apoio emocional, encorajamento, risadas, caronas e abrigo carinhoso para o Lorenzo enquanto eu escrevia esse trabalho.

A todos os parceiros profissionais pelo empenho e dedicação na execução desse projeto.

A todos os pacientes, ou sem vocês, não haveria razão de ser.

A todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a conclusão desta tese.

Todas as vitórias ocultam uma abdicação.
(Simone de Beauvoir)

BENJAMIN, Aline. **LAM associado à baciloscopia para detecção precoce de casos de tuberculose na rotina clínica de pacientes com tuberculose associada ao HIV e imunodeficiência avançada.** 2021. 81f.Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em doenças Infecciosas] – Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. Rio de Janeiro, 2022.

RESUMO

O diagnóstico precoce de tuberculose (TB) ainda é um desafio para sua prevenção, cuidado e controle, principalmente em países de média e baixa renda e com alta prevalência de pessoas vivendo com HIV (PVHIV). Os testes *point-of-care* (PoC) surgiram como uma ferramenta importante para várias doenças infecciosas, fornecendo resultados em tempo real, ao lado do paciente. O Determine TB-LAM Ag (LAM) é um teste PoC para diagnosticar TB através da urina. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho diagnóstico do LAM em PVHIV e estimar o custo para sugerir a melhor e mais barata estratégia de diagnóstico de TB em PVHIV. Assim, comparamos os custos entre o uso de LAM em todas as PVHIV com sinais e sintomas (S/S) de TB com o uso de LAM apenas para aquelas com S/S de TB e CD4 \leq 200 células/mm³. Um estudo transversal foi realizado para incluir 199 pacientes adultos em dois centros no Rio de Janeiro e dois em São Paulo. O estudo incluiu PVHIV com contagens de CD4 \leq 200 células/mm³ através do PIMA CD4) com tosse por pelo menos 2 semanas e/ou apresentando uma radiografia de tórax sugestiva de TB. O LAM, em conjunto com a baciloscopia de escarro ou com Xpert MTB/RIF (Xpert), foi comparado com a cultura de *Mycobacterium tuberculosis*, usada como padrão de referência. A prevalência de TB foi de 24,6% em nossa população. A acurácia geral do LAM foi de 79,9% (73,8%-84,9%), os valores preditivos positivos e negativos foram 62,2% (46,1%-75,9%) e 84% (77,5%-88,8%), respectivamente. A sensibilidade geral do LAM foi de 46,9% (33,7%-60,6%) e a especificidade foi de 90,7% (84,9% -94,4%). O melhor desempenho do LAM foi observado entre os pacientes com contagem de CD4 \leq 50 células/mm³ (sensibilidade = 70,4% e especificidade = 85,9%). Quando duas baciloscopias de escarro foram realizadas em conjunto com o LAM, a sensibilidade aumentou 22% em comparação a duas baciloscopias. Além disso, o LAM, quando usado em conjunto com duas baciloscopias de escarro foi tão sensível quando comparado em conjunto com uma única baciloscopia. No entanto, nenhum incremento no diagnóstico de TB ocorreu quando o LAM foi usado com o Xpert em comparação com o Xpert sozinho. Entre os 14 LAM falso-positivos, em 3 casos foram isoladas micobactérias não tuberculosas. Apenas 18% dos participantes tiveram contagens de CD4 $>$ 200 células/mm³, portanto, usar o PIMA para triar pacientes com CD4 \leq 200 células/mm³ antes de usar o LAM aumentou o custo em 314%. Assim, o Determine TB-LAM Ag é um teste PoC que incrementou o diagnóstico de TB em PVHIV imunossuprimidas quando usado em conjunto com a baciloscopia de escarro, mas não quando usado com Xpert. Então, propomos o uso do LAM para acelerar o diagnóstico em PVHIV com S/S de TB fazendo parte de um algoritmo de diagnóstico alternativo nos serviços de HIV de países de baixa renda, com alta carga de TB.

Palavras-chave: Tuberculose. HIV. Diagnóstico. LAM. Teste rápido.

BENJAMIN, Aline. **LAM associado à baciloscopia para detecção precoce de casos de tuberculose na rotina clínica de pacientes com tuberculose associada ao HIV e imunodeficiência avançada.** 2021. 81f.Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em doenças Infecciosas] – Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. Rio de Janeiro, 2022.

ABSTRACT

Early tuberculosis (TB) diagnosis remains a challenge for its prevention, care and control, especially in median and low-income countries and those with high prevalence of people living with HIV (PLHIV). Point-of-care (PoC) tests have emerged as an important tool for several infectious diseases and allows medical staff to accurately achieve real-time, lab-quality diagnostic results within minutes, alongside the patient. Determine TB-LAM Ag (LAM) is a PoC test developed to diagnose TB. The aim of this study was to evaluate the diagnostic performance of LAM in PLHIV. Also, as cost is a relevant feature to public health systems, we have estimated it to suggest the best and cheaper TB diagnosis strategy for PLHIV. Thus, we compared costs between using LAM for all PLHIV with signs and symptoms (S/S) of TB and using LAM only for those with S/S of TB and $CD4 \leq 200$ cells/ mm^3 . A cross-sectional study was designed to enroll 199 adult patients in two sites in Rio de Janeiro and two in São Paulo. The study enrolled PLHIV with $CD4$ counts ≤ 200 cells/ mm^3 (in the PIMA $CD4$ assay at study screening), coughing for at least 2 weeks or presenting a chest radiography suggestive of TB. LAM, in conjunction with sputum smear microscopy or Xpert MTB/RIF (Xpert) was compared to *Mycobacterium tuberculosis* culture, the reference standard test. The TB prevalence was 24.6% in our population. Overall accuracy of LAM was 79.9% (73.8%-84.9%), positive and negative predictive values were 62.2% (46.1%-75.9%) and 84% (77.5%-88.8%), respectively. The overall LAM sensitivity was 46.9% (33.7%-60.6%) and specificity was 90.7% (84.9%-94.4%). The best performance of LAM was observed among patients with $CD4$ counts ≤ 50 cells/ mm^3 (sensitivity = 70.4% and specificity = 85.9%). When 2 respiratory smears were used in conjunction with LAM, sensitivity increased 22% as compared to just 2 smears. Furthermore, LAM when used in conjunction with two respiratory smears was as sensitive as compared to a single one. However, no improvement in TB diagnosis occurred when LAM was used with Xpert as compared to Xpert alone. Among 14 LAM false positive tests, Non-Tuberculosis Mycobacteria were isolated in three cases. Only 18% of participants had $CD4$ counts > 200 cells/ mm^3 , so first using PIMA to screen patients with $CD4 \leq 200$ cells/ mm^3 before using LAM increased the cost by 314%. Then, Determine TB-LAM Ag is a PoC test that increased TB diagnosis in immunosuppressed PLHIV when used in conjunction with smear microscopy, but not when used with Xpert. Thus, we propose using LAM to faster TB diagnosis for PLHIV with S/S of TB as an alternative diagnostic algorithm to HIV services in high TB burden, low-income countries.

Keywords: Tuberculosis. HIV. Diagnosis. LAM. Rapid test.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HIV	Vírus da imunodeficiência humana / <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
INI	Instituto Nacional de Infectologia
LAM	Determine TB-LAM Ag
LAPCLINTB	Laboratório de Pesquisa Clínica em Micobacterioses
MS	Ministério da Saúde
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNCT	Programa Nacional de Controle da Tuberculose
PoC	<i>Point-of-care</i>
PVHIV	Pessoas vivendo com HIV/AIDS
S/S	Sinais e sintomas
TB	Tuberculose
TBMDR	Tuberculose multidroga resistente
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
Xpert	Xpert MTB/RIF

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 Objetivos	22
2.1 Objetivo Artigo 1	22
2.2 Objetivos Artigo 2.....	22
3. DESENVOLVIMENTO	23
3.1 ARTIGO 1	23
3.2 Artigo 2.....	45
4 CONCLUSÃO	59
4.1 ARTIGO 1	59
4.2 Artigo 2.....	59
5 considerações finais e recomendações	60
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
7 ANEXOS	68
ANEXO 1 – FLUXOGRAMA DOS PROCEDIMENTOS DO ESTUDO	68
Anexo 2 – Termo do Consentimento Livre e Esclarecido	69
Anexo 3 – Parecer consubstanciado CEP	74
Anexo 4 – Parecer consubstanciado Conep	78

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma das doenças mais antigas da humanidade, todavia, é ainda um importante problema de saúde pública global, se configurando como a primeira doença infecciosa mais mortal no mundo, já à frente das mortes pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) desde 2007.

É uma doença causada por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), transmitida pelo ar e que frequentemente acomete os pulmões, mas pode afetar outros órgãos, como linfonodos, ossos, rins, meninges, olhos. A maioria das infecções por Mtb resulta em TB latente e assintomática – um terço da população mundial está infectada (CORBETT et al., 2003) – e em torno de 5-15% dessas pessoas desenvolverão TB ativa (COMSTOCK; LIVESAY; WOOLPERT, 1974; VYNNYCKY; FINE, 1997). Já entre as pessoas vivendo com HIV, esse índice sobe para 30 a 50% (DE COCK, 1994).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, só em 2019, em torno de 10,0 milhões de pessoas adoeceram com TB e 1,2 milhão morreu por TB entre as pessoas soronegativas para o HIV. Já, entre as PVHIV estima-se um adicional de 208.000 mortes. Homens com idade a partir de 15 anos foram os mais acometidos pela doença (56%), enquanto as mulheres representaram 32% e crianças com <15 anos representaram 12%. Entre todos os afetados, 8,2% eram PVHIV (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a).

As regiões de maior incidência de TB são o Sudeste Asiático (44%), África (25%) e Pacífico Ocidental (18%), com percentuais menores no Mediterrâneo Oriental (8,2%), nas Américas (2,9%) e na Europa (2,5%). Oito países são responsáveis por 2/3 do total global de novos casos de TB: Índia (26%), Indonésia (8,5%), China (8,4%), Filipinas (6,0%), Paquistão (5,7%), Nigéria (4,4%), Bangladesh (3,6%) e África do Sul (3,6%). Apesar do número de mortes por TB estar caindo globalmente, não está rápido o suficiente para atingir a redução de 35% entre 2015 e 2020, proposta pela OMS. A redução acumulada entre 2015 e 2019 foi de 14%, menos que a metade do marco. Além disso, com a recente pandemia de COVID-19, espera-se que o número global de mortes por TB tenha aumentado em cerca de 0,2-0,4 milhões apenas em 2020 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a). A TB, que sabidamente é uma doença com forte componente social, associada à pobreza, desnutrição e aglomeração,

certamente sofrerá mais impacto negativo em seus índices devido à diminuição da renda e o desemprego causados pela pandemia.

Os pacientes com HIV têm maior probabilidade de apresentar um desfecho desfavorável ao tratamento de TB. Assim, a TB representa a primeira causa de morte em pacientes com aids no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012) e na cidade do Rio de Janeiro (SARACENI et al., 2008). É também a doença oportunista mais comum, pois as células TCD4 determinantes para o controle do Mtb são altamente susceptíveis a este vírus. Assim, as PVHIV que tem 18 vezes mais chances de desenvolverem TB ativa (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a) .

A OMS definiu três novas listas de países de alta carga para o período de 2016 a 2020: TB; TB-HIV e TB multidroga resistente (TBMDR). Estas listas foram configuradas para conter os 20 países com maior número absoluto de casos e mais 10 países adicionais com maiores taxas de incidência de TB – mas que não estavam entre os 20 primeiros países – e com uma incidência mínima de 10.000/ano para TB e 1.000/ano para TB-HIV e TBMDR. O Brasil aparece nas duas primeiras listas. Portanto, o Brasil faz parte do grupo de 30 países de alta carga (incidência de TB/100.000 habitantes) priorizados pela OMS, que concentram 80% dos casos de TB do mundo, e também está no grupo de 20 países com maior número absoluto de casos, ocupando a 16º posição (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

Ao longo dos anos, notou-se diminuição da incidência de TB no Brasil. Em 2017, foram diagnosticados 72.700 casos novos de TB, sendo que 77,8% dos pacientes foram testados para HIV, apresentando 9,5% de coinfeção (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019a). Em 2019, foram notificados cerca de 4,5 mil óbitos pela doença, com um coeficiente de mortalidade de 2,2 óbitos por 100 mil habitantes. Mais recentemente, em 2020, o Brasil registrou 66.819 casos novos de TB, com um coeficiente de incidência de 31,6 casos por 100 mil habitantes (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Um dos pilares para diminuição do número de casos de TB é o diagnóstico rápido (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015^a), mas ainda hoje o diagnóstico microbiológico de TB é um limitador para a detecção precoce da doença, especialmente em países em desenvolvimento. Entre os 48 países com alta carga, apenas 18 relataram o uso de um teste diagnóstico rápido como teste inicial para mais da metade de seus casos de TB (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020^a). Isso sugere que o diagnóstico rápido de TB ainda se baseia, em boa parte desses países,

em exames pouco sensíveis e específicos – especialmente em PVHIV – como a baciloscopia e a radiografia de tórax (ELLIOTT et al., 1993; LEVY et al., 1989; LIPSKY et al., 1984; SHARMA et al., 2005). A imunossupressão dessa população impede a formação do granuloma e a consequente contenção das micobactérias no pulmão, o que resulta em imagens atípicas na radiografia de tórax (MURRAY, 2005; N'DHATZ et al., 1994). Além disso, pessoas imunossuprimidas tendem a ser paucibacilares - expõem poucos bacilos no escarro - tendo, portanto, maior probabilidade de apresentarem baciloscopia negativa (ELLIOTT et al., 1993; JOHNSON et al., 1998). Todos esses fatores podem culminar em tratamentos empíricos ou até mesmo equivocados.

A baciloscopia é um exame de baixa sensibilidade e requer equipe treinada e experiente. Sua sensibilidade é menor que 60% para os pacientes imunocompetentes (LEVY et al., 1989; LIPSKY et al., 1984) e ainda cai substancialmente dentre as PVHIV (ELLIOTT et al., 1993; JOHNSON et al., 1998). O desempenho da cultura para *Mtb*, que é o teste referência para o diagnóstico de TB, é melhor, entretanto as equipes devem ser capacitadas, treinadas regularmente e o laboratório deve ter infraestrutura adequada – realidade inacessível para a maioria dos países de baixa renda. Além disso, a cultura é lenta e cara, atrasando ainda mais o diagnóstico de TB (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2015a). Portanto, esses testes têm muitas limitações, não são de fácil operacionalização, e suas performances são afetadas pela presença da infecção por HIV (PERKINS; CUNNINGHAM, 2007). Os meios de cultura líquidos vieram para contribuir com a maior sensibilidade e rapidez nos resultados, mas não conseguiram ainda resolver definitivamente a dificuldade no diagnóstico de TB extrapulmonar e das formas paucibacilares em imunodeficientes. Além disso, a cultura é pouco solicitada no Brasil para as PVHIV ou mesmo para os casos de retratamento, (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021) apesar das recomendações do Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT).

Ainda em 1994, mostrou-se que um único teste molecular era capaz de fazer a detecção direta e simultânea de *Mtb* e da resistência à rifampicina, através da identificação de mutações no gene *rpoB*, presente em 95 a 98% das cepas de *Mtb* resistentes a esta droga (HUNT, 1994). Este teste foi aperfeiçoado a ponto de transformar-se em uma Reação de Polimerase em Cadeia em Tempo Real (RT-PCR) realizado em um único tubo que contém sondas de hibridização fluorescentes

específicas para detecção de tais mutações (PIATEK et al., 1998, 2000). Em 2010 o mesmo grupo em parceria com a empresa Cepheid (Sunnyvale, CA) adaptou esta ferramenta para o já existente GeneXpert System (RAJA, 2005), um cartucho de processamento de amostras com capacidade para RT-PCR, capaz de simplificar os testes de amplificação de ácidos nucleicos. O primeiro estudo de validação mostrou que o limite de detecção do então, Xpert MTB/RIF (Xpert), é de 4,5 genomas de Mtb por reação, além de 100% de especificidade para detecção de resistência. Foi também capaz de detectar 100% das amostras com baciloscopia e cultura positivas e 84,6% das amostras com baciloscopia negativa e cultura positiva (HELB et al., 2010). Um outro estudo maior analisou amostras de 1730 pacientes de 4 países diferentes e mostrou sensibilidade de 98,2% entre os pacientes bacilíferos e de 72,5% entre os não bacilíferos – esta sensibilidade foi aumentada para 90,2% após realização do teste em três amostras. Além disso, o Xpert detectou 97,5% das amostras resistentes à rifampicina (BOEHME et al., 2010).

O Xpert foi endossado pela Organização Mundial da Saúde em dezembro de 2010. Resultados de vários estudos prospectivos confirmaram a excelente acurácia de tal teste. Um único exame direto do escarro detectou 99% dos pacientes com baciloscopia positiva e 80% dos pacientes com baciloscopia negativa. A sensibilidade geral de um único teste direto de Xpert foi de 91%. A coinfeção por HIV não afetou significativamente o desempenho do Xpert. A resistência à rifampicina foi detectada com sensibilidade de 95,1% e especificidade de 98,4% (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). Além disso, o tempo médio de detecção de Mtb com este teste foi de 0 dia, comparado com 1 dia para microscopia, 30 dias para cultura sólida e 16 dias para cultura líquida. Houve ainda, redução do tempo médio de início de tratamento de TB com baciloscopia negativa de 56 dias para 5 dias (BOEHME et al., 2011). Em 2014, uma revisão da Cochrane observou que o Xpert realizado em espécimes respiratórios apresentou sensibilidade de 98% entre os pacientes com baciloscopia positiva, mas a sensibilidade caía para 67% entre aqueles com baciloscopia negativa (STEINGART et al., 2014). Essa queda na sensibilidade poderia influenciar então, o diagnóstico da TB em pacientes com imunodeficiência por HIV, que como citado anteriormente, são frequentemente paucibacilares.

No Brasil, foi realizado um ensaio clínico randomizado pragmático do tipo *stepped-wedge por cluster* onde a implementação do Xpert em substituição à baciloscopia foi avaliada em cenário de rotina em 14 laboratórios nas cidades do Rio

de Janeiro e Manaus. Tal estudo mostrou que a introdução do teste molecular aumentou em 59% a confirmação bacteriológica de TB e diminuiu em 3 dias a mediana de tempo para o início do tratamento (DUROVNI et al., 2014).

Em 2014, o Xpert foi incorporado ao algoritmo para diagnóstico da TB do Ministério da Saúde para investigação tanto de casos novos de TB como para casos de retratamento da doença em PVHIV. Nos casos novos, o Xpert deve ser realizado paralelamente à cultura e ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. A baciloscopia também é realizada nos casos de retratamento já que o exame molecular pode permanecer positivo mesmo após a cura da doença e é realizado apenas para investigação de resistência para os pacientes anteriormente tratados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Apesar do Xpert ser um divisor de águas no diagnóstico de TB, a sua implantação evidenciou lacunas que limitaram a ampliação do seu uso. O alto custo do teste para os sistemas públicos e a falta de subsídios ao setor privado de saúde, além da indisponibilidade de um pacote completo de soluções (formação de equipes, planos de implementação, assistência e manutenção adequadas) foram observados nos anos posteriores a 2010, atenuando o impacto positivo visto nos desfechos dos pacientes de estudos clínicos. Assim, o impacto clínico real parece ter sido atenuado por falhas dos sistemas de saúde (ALBERT et al., 2016). Além disso, foram relatadas taxas de 10,6% de falhas técnicas no teste em 9 países de alta carga de TB, TB-HIV e TBMDR (CRESWELL et al., 2014). Taxas de falha de 7,2% no teste e de 11,36% nos módulos do GeneXpert foram relatadas na África do Sul (RAIZADA et al., 2014). No Brasil, problemas na disponibilização de uma assistência técnica rápida e adequada também foram observados (DUROVNI et al., 2014b). Por fim, o aparelho requer fornecimento de energia elétrica ininterrupto e estável, ar condicionado e calibração anual dos módulos, o que pode representar um problema em áreas mais remotas.

Assim, ainda há dificuldade no diagnóstico de TB paucibacilar e extrapulmonar e a necessidade de testes simples e baratos para diagnosticar TB é ainda premente (LAWN et al., 2013; MCNERNEY; DALEY, 2011).

Estamos assistindo, nos últimos anos, um avanço significativo nas ferramentas diagnósticas PoC de forma geral, incluindo àquelas voltadas ao diagnóstico de TB. Recentemente, um teste foi desenvolvido para diagnóstico de TB na urina. Esse teste

baseia-se na detecção do lipoarabinomanan (LAWN et al., 2012b; SHAH et al., 2009b).

O lipoarabinomanan é um importante glicolípido estrutural de 17.5 kD encontrado na parede do Mtb. Representa um fator imunogênico de virulência liberado de micobactérias metabolicamente ativas ou degradadas durante a infecção/doença (CHAN et al., 1991; HUNTER; GAYLORD; BRENNAN, 1986), filtrado pelos rins e eliminado através da urina (BOEHME et al., 2005), onde poderia ser detectado por um exame específico. Alguns fatores parecem aumentar a probabilidade de detecção do LAM na urina, tais como a replicação de Mtb no tecido, formas clínicas com uma grande carga bacilar e o comprometimento de células mesoteliais no glomérulo, o que parece facilitar a penetração do lipoarabinomanan nos túbulos renais e sua excreção na urina (LAWN et al. 2012).

Há uma discussão sobre a origem do lipoarabinomanan na urina. Acredita-se que uma concentração alta e, portanto, detectável desse glicolípido na urina de pacientes com imunodeficiência avançada seja dependente de uma alta carga micobacteriana e disseminação sistêmica de Mtb (NAKIYINGI et al., 2015). De fato, parece razoável que os pacientes com TB mais localizada excretem menos lipoarabinomanan. Outras hipóteses seriam que o sistema renal é afetado por fatores associadas à infecção avançada por HIV, havendo então micobacteriúria nesses pacientes quando os mesmos tem TB ou que haja TB renal. Autópsias realizadas em Uganda, em PVHIV que faleceram durante a hospitalização, mostraram que 62% dos pacientes que excretaram lipoarabinomanan na urina tinham TB renal. O restante tinha TB disseminada sem comprometimento renal (COX et al., 2015; LAWN; GUPTA-WRIGHT, 2016; WOOD et al., 2012).

A detecção de lipoarabinomanan na urina antes do início da terapia antirretroviral também foi relatada como associada à síndrome inflamatória de reconstituição imune (CONESA-BOTELLA et al., 2011; LAWN et al., 2009), reforçando a ideia de que a alta concentração urinária desse glicolípido refletiria uma doença disseminada com alta carga bacteriana. Mais estudos são necessários para se chegar a um consenso sobre o assunto, mas parece que a origem do lipoarabinomanan na urina pode ter não apenas uma única explicação ou mesmo ser multifatorial.

Um teste capaz de detectar esse glicolípido na urina teria como vantagem o fato de utilizar um material biológico de fácil obtenção, poder ser realizado em condições ambulatoriais e com poucas exigências de biossegurança. Além disso, a

urina é fácil de coletar, estocar e descartar, e é particularmente atrativa em populações especiais, tais como crianças, que são incapazes de produzir escarro, pacientes em estado grave e imunodeficientes.

O primeiro teste comercial para detecção do lipoarabinomanan na urina foi o Clearview TB ELISA, um teste imunoenzimático que precisa de estrutura laboratorial. Avanços na tecnologia permitiram que a empresa lançasse o Determine TB LAM Ag (LAM), um teste imunocromatográfico, em fita. Avaliações preliminares dos testes de detecção de lipoarabinomanan nestas duas versões disponíveis mostraram aumento da sensibilidade do Determine TB LAM Ag (LAM) quando comparado com Clearview TB ELISA, em PVHIV (PETER et al. 2010). O LAM tem ainda outras vantagens sobre o Clearview: a apresentação em fita torna o teste mais atrativo, pode ser realizado em consultórios, é de fácil operacionalização e não depende de energia elétrica. Ainda, o resultado é liberado em 30 minutos e parece ter baixa reação cruzada com micobactérias não tuberculosas (QVIST et al., 2014).

O teste LAM tem mostrado uma acurácia variável para o diagnóstico de TB nos diferentes estudos, com uma sensibilidade geral baixa (MINION et al. 2011; FLORES et al. 2011). Entretanto, a sensibilidade da detecção do lipoarabinomanan mostrou-se aumentada em PVHIV com imunossupressão avançada e também em indivíduos com alta carga bacilar (LAWN et al., 2009; SHAH et al., 2009a, 2010). A sensibilidade do LAM foi de 41% em PVHIV com baciloscopia negativa num estudo na África do Sul, onde foi usado na rotina e antes da introdução da terapia antirretroviral (LAWN et al. 2012). Quando utilizado em paralelo com a baciloscopia de escarro em pacientes com $CD4 < 50$ células/mm³, o LAM contribuiu para um incremento na detecção de TB de 33,3% para 72,2%; nos pacientes com $CD4 < 100$ células/mm³, o incremento foi de 34,5% para 65% e naqueles com $CD4 < 200$ células/mm³ de 34,8% para 58,7% (LAWN et al., 2012b).

Em 2015 a OMS publicou uma revisão sobre o uso do LAM (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2015b). Seis estudos foram incluídos na análise da acurácia deste teste quando comparado à cultura para Mtb. Foram incluídos 3037 PVHIV, mas somente 1163 (38%) tiveram TB microbiologicamente confirmada. Nos estudos individuais, a sensibilidade variou de 23% a 84% e a especificidade de 75% a 99%. A menor sensibilidade de 23% foi observada num estudo de Peter et al (2015). As diferenças observadas entre este estudo e os demais foi o fato de ter sido realizado em pacientes ambulatoriais com foco TB pulmonar e exclusão de pacientes incapazes

de produzir escarro. Entretanto, a sensibilidade combinada dos seis estudos foi de 44% e a especificidade agrupada foi de 92%.

Após análise de vários outros estudos, a OMS orientou, em 2015, que o LAM fosse usado apenas em PVHIV adultas, com sintomas de TB pulmonar e/ou extrapulmonar, com contagens de $CD4 \leq 100 /mm^3$ ou em pacientes seriamente doentes, no caso do CD4 não estar disponível (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015b). Em 2019, a OMS passou a recomendar fortemente o uso do LAM para auxiliar o diagnóstico de TB em PVHIV em pacientes internados: 1) com sinais e sintomas (S/S) de TB pulmonar e/ou extrapulmonar; 2) com HIV em estágio avançado ou gravemente enfermos; 3) independente dos S/S de TB e com $CD4 < 200$ células/ mm^3 . Já em ambientes ambulatoriais, a OMS sugere o uso de LAM para auxiliar no diagnóstico de TB ativa em PVHIV com: 1) S/S de TB pulmonar e/ou extrapulmonar ou doença grave; 2) independente do S/S de TB e com contagem de células CD4 < 100 células/ mm^3 . A OMS também recomenda que todos os pacientes com S/S de TB pulmonar que são capazes de expectorar devem ter pelo menos uma amostra de escarro submetida ao agora, mais recente, Xpert MTB/RIF Ultra (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

O Ultra apresenta sensibilidade superior ao seu antecessor na detecção de TB pulmonar, especialmente para espécimes paucibacilares, ou seja, amostras de esfregaço negativo e amostras de PVHIV, em quem o teste anterior é menos sensível. No entanto, esse aumento de sensibilidade veio acompanhado de uma perda de especificidade (DORMAN et al., 2018). Esse teste foi recentemente incorporado pelo PNCT (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019b).

A presença do lipoarabinomanan na urina também está associada a uma mortalidade significativamente maior do que a de pacientes com resultado negativo no LAM (LAWN et al., 2012; BALCHA et al., 2014; PETER et al., 2015). Portanto, uma triagem inicial com LAM ainda poderia ajudar no diagnóstico mais rápido de TB em PVHIV com imunodeficiência avançada e ao se instituir o tratamento da TB mais rapidamente, poderia haver impacto na redução da mortalidade por TB entre PVHIV (DRAIN et al., 2017; GUPTA-WRIGHT et al., 2016; PETER et al., 2016).

O Fujifilm SILVAMP TB LAM é um outro teste rápido mais recente que também detecta o lipoarabinomanan com resultados disponíveis em menos de 1 hora. Este ensaio combina um par de anticorpos monoclonais de alta afinidade direcionados principalmente para epítomos do lipoarabinomanan mais específicos do Mtb

(CHOUDHARY et al., 2018; SIGAL et al., 2018) e uma etapa de amplificação por prata que aumenta em 10 vezes a visibilidade das linhas do teste. Isso permite a detecção de concentrações de lipoarabinomanan que são aproximadamente 30 vezes menores do que as detectadas pelo LAM (BROGER et al., 2019). O primeiro trabalho publicado com o Fujifilm SILVAMP TB LAM mostrou uma diferença de sensibilidade em torno de 30% entre ele e o LAM em PVHIV com mediana de CD4 abaixo de 100 células/mm³. A sensibilidade do Fujifilm SILVAMP TB LAM também é maior conforme a contagem de CD4 dos pacientes diminui (BROGER et al., 2019). Outros estudos vem demonstrando a sensibilidade superior do Fujifilm SILVAMP TB LAM, (KERKHOFF et al., 2020; NKEREUWEM et al., 2021) mas ele ainda não está disponível comercialmente e há estudos ainda em andamento para estabelecer o seu desempenho na prática clínica e fornecer dados para OMS construir uma recomendação oficial.

Assim, a imunossupressão associada ao HIV modifica a apresentação usual de TB, dificultando o diagnóstico clínico-radiológico e/ou bacteriológico e contribuindo com a alta mortalidade por TB nesta população. Métodos diagnósticos rápidos, com boa acurácia, que permitam a detecção precoce de TB são importantes. Portanto, em termos práticos, um teste como o Determine TB LAM Ag, que já está aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, poderia ser de utilidade clínica se incorporado à rede pública brasileira de saúde para o diagnóstico rápido de TB em PVHIV com imunodeficiência avançada. Para isso, é importante que este exame tenha seu desempenho testado em locais no Brasil que façam acompanhamento deste grupo específico de pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO ARTIGO 1

Avaliar a acurácia do LAM em PVHIV com contagem de CD4 \leq 200 células/mm³ e com suspeita de TB.

2.2 OBJETIVOS ARTIGO 2

Estimar o custo do uso do LAM em PVHIV associado ou não à contagem de células CD4 através do CD4 PIMA Analyser (teste rápido de contagem de células CD4).

Propôr um algoritmo diagnóstico para TB em PVHIV incluindo o LAM.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 ARTIGO 1

Aline Benjamin

**ACCURACY OF DETERMINE TB-LAM AG TO DETECT TB IN HIV INFECTED
PATIENTS ASSOCIATED WITH DIAGNOSTIC METHODS USED IN BRAZILIAN
PUBLIC HEALTH UNITS**

Orientadora: Valeria Cavalcanti Rolla
Coorientadora: Solange Cesar Cavalcante

Rio de Janeiro
2021

Artigo 1. Publicado na revista: PLoS One. 2019 Sep 24;14(9):e0221038.
 PMID: 31550246
 PMCID: PMC6759169
 DOI: 10.1371/journal.pone.0221038

Accuracy of Determine TB-LAM Ag to detect TB in HIV infected patients associated with diagnostic methods used in Brazilian public health units

LAM in Brazilian TB diagnostic algorithm for HIV infected patients

Aline Benjamin¹, Solange Cesar Cavalcante¹, Leda Fátima Jamal², Denise Arakaki-Sanchez³, Josué Nazareno de Lima³, Jose Henrique Pilotto^{4,5}, Francisco Ivanildo de Oliveira Junior⁶, Tâmara Newman Lobato Souza⁶, Maria Cristina Lourenço⁷, Maeve Brito de Mello⁸, Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil⁹, Draurio Barreira¹⁰, Valeria Rolla¹.

1. Clinical Research Laboratory on Mycobacteria, National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil
2. STD/AIDS Reference and Training Center, Health Secretariat of State of São Paulo, Brazil, Brazil
3. National Tuberculosis Program, Ministry of Health, Brasilia, Brazil
4. STD/AIDS Service, Nova Iguaçu General Hospital, Rio de Janeiro, Brazil
5. Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil
6. Institute of Infectious Disease Emilio Ribas, São Paulo, Brazil
7. Bacteriology and Bioassay Laboratory, National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil
8. Pan American Health Organization, Washington DC, United States of America
9. Clinical Research Laboratory on Immunization and Surveillance in Health, National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil
10. Unitaid, Geneva, Switzerland

Corresponding author:

Aline Benjamin

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – Fiocruz

Av. Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil

CEP: 21040-900

Phone +5521 38659607 / Mobile +5521 981381585

E-mail: alinebenjamin.ipecc@gmail.com

Abstract

Background: Determine TB-LAM Ag (LAM) is a point of care test developed to diagnose tuberculosis (TB). The aim of this study was to evaluate the diagnostic performance of LAM in people living with HIV using Brazilian public health network algorithm for TB diagnosis.

Methods and findings: A cross-sectional study design was used to enroll 199 adult patients in two sites in Rio de Janeiro and two in São Paulo. The study enrolled HIV-infected patients with CD4 counts ≤ 200 cells/mm³ (in the Alere PIMA CD4 assay at study screening), patients coughing for at least 2 weeks or presenting a chest radiography suggestive of TB. LAM, in conjunction with sputum smear microscopy or Xpert MTB/RIF (Xpert) as compared to *Mycobacterium tuberculosis* culture, which was used as a reference standard. TB prevalence was 24.6%. Overall accuracy of LAM was 79.9% (73.8%-84.9%), positive and negative predictive values were 62.2% (46.1%-75.9%) and 84% (77.5%-88.8%), respectively. The overall LAM sensitivity was 46.9% (33.7%-60.6%) and specificity was 90.7% (84.9%-94.4%). The best performance of LAM was observed among patients with CD4 counts ≤ 50 cells/mm³ (sensitivity = 70.4% and specificity = 85.9%). When 2 respiratory smears were used in conjunction with LAM, sensitivity increased 22%, as compared to just 2 smears. Furthermore, LAM when used in conjunction with two respiratory smears, was as sensitive as compared to a single one. However, no improvement in TB diagnosis occurred when LAM was used with Xpert as compared to Xpert alone. Among 14 LAM false positive tests, Non-Tuberculosis Mycobacteria were isolated in three cases.

Conclusion: LAM is a point of care test that increased TB diagnosis in immunosuppressed HIV-infected patients when used in conjunction with smear microscopy, but not when used with Xpert in Brazilian public health network sites. Use of LAM test should be considered in settings where immunosuppressed HIV patients need rapid TB diagnosis.

Introduction

Tuberculosis (TB) diagnosis continues to be a challenge in people living with HIV (PLHIV) since immunosuppression results in atypical images on the chest X-ray (MURRAY, 2005; N'DHATZ et al., 1994) and paucibacillary disease. This often leads to negative smear microscopy (ELLIOTT et al., 1993; JOHNSON et al., 1998a) and delayed diagnosis as *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) culture is slow to grow.

Brazil used a TB diagnostic algorithm based on smear microscopy and Mycobacterial culture until 2014 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011), when it was modified to incorporate Xpert MTB/RIF (Xpert) into the public health system (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Since then, for PLHIV, Brazilian public health laboratories use either: a) Xpert, culture and drugs sensitivity tests (DST) for new TB cases or b) two sputum smears, Xpert, culture and DST for retreatment of TB cases.

Determine TB LAM Ag (LAM) detects lipoarabinomannan, a glycolipid from Mycobacteria wall that is eliminated in the patient's urine. The overall sensitivity is low (FLORES et al., 2011; MINION et al., 2011), but the test does increase TB diagnosis in HIV immunosuppressed patients (LAWN et al., 2012a). The World Health Organization (WHO) advises that LAM should only be used on PLHIV with symptoms suggestive of pulmonary and/or extrapulmonary TB, with CD4 ≤ 100 cells/mm³ or in those seriously ill if CD4 cell counts are unavailable (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015b).

The aim of this study was to evaluate the diagnostic performance of LAM in PLHIV with CD4 counts ≤ 200 cell/mm³, when used in conjunction with smear microscopy or Xpert, compared to Mtb culture to determine if LAM should be incorporated into the Brazilian TB diagnosis algorithm for PLHIV in the public health system.

Materials and Methods

Ethics statement

This study was approved by the following Institutional Review Boards: National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Center for Reference and Training STD/AIDS, Nova Iguaçu General Hospital and Institute of Infectious Disease Emilio Ribas and by National Research Ethics Committee (CAAE number 439.001).

Study design

This was a cross-sectional, pragmatic multicenter study with consecutive inclusion of patients suspected of TB attended at 2 sites in Rio de Janeiro (National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas and Nova Iguaçu General Hospital) and 2 sites in São Paulo (Institute of Infectious Disease Emilio Ribas and Center for Reference and Training STD/AIDS). All four sites are public HIV reference health units.

Participants

Patients were initially screened to detect signs and symptoms of TB and HIV. Chest X-ray was requested for those without a previous exam in the last 15 days before enrollment. Participants were also submitted to a rapid CD4 cell count through Alere PIMA Analyzer. At least one respiratory sample was provided to perform smear microscopy and Mycobacterial culture. Hemoculture and other specimens' cultures were done according to patients' signs and symptoms. During this study, Xpert was incorporated into Brazilian TB diagnosis algorithm and was included in the protocol after an amendment to the original one.

Patients were enrolled if they were 18 years old or more, HIV-positive, signed an informed consent, had cough for at least 2 weeks or presented a chest radiography suspected of TB and had CD4 counts ≤ 200 cells/mm³. Patients were excluded if they were pregnant, did not provide urine, failed to provide at least one respiratory sample or had initiated TB treatment 30 days before study entry.

Study procedures

All enrolled participants provided a fresh urine sample for LAM detection. The results were independently read by two nurses and photos were taken for future comparisons.

Chest X-rays showing upper lobe opacity, lower lobe upper segment opacity, millitary pattern, mediastinal adenopathy, pleural effusion or cavitation were considered suggestive of TB.

TB diagnostic tests were performed by a certified public bacteriology laboratory for each site involved. Respiratory samples, as well as other suspected site samples, were processed following their own standardized practices. Laboratories staffs were blinded to patient's clinical data and LAM results. Acid fast stain were done using Ziehl-Neelsen method and Mycobacteria load was reported as negative, scarce bacilli, +, ++

and +++ according to Brazilian TB Guidelines (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). At the Rio de Janeiro sites, Mycobacterial culture was performed using Lowenstein-Jensen medium and MGIT Mycobacterial Growth Indicator Tubes (BD Diagnostics, USA), while at São Paulo sites only MGIT was performed. Xpert, LAM and Alere PIMA CD4 assays were performed according to manufacturers' instructional package inserts. Respiratory sample diagnostic routine and LAM test were performed in parallel.

A patient was considered with TB diagnosis if any culture (LJ or MGIT) of any respiratory or no respiratory sample resulted in Mtb isolation.

All clinical and laboratorial data were recorded through Research Electronic Data Capture and data was analyzed using R-project, version 3.4.3. Descriptive analyzes were used for socio-demographic and clinical characteristics. Diagnostic accuracy measurements of sensitivity, specificity and predictive values were estimated with 95% confidence interval in overall population and stratified by CD4 cell counts (≤ 50 , 51 – 100 and 101–200), with Mtb culture as the reference standard. The tests combinations were conducted in parallel, which means subjects were classified as positive when at least one of them was positive, even if one of the tests was absent.

Sample size calculation

Since there was little information regarding TB diagnosis when adding LAM to existing testing algorithms, the sample size for the study was based on several considerations. Since smear sensitivity was expected to be between 50% and 60% an increase of sensitivity between 20% and 40% was expected when adding LAM to smear. At a parsimonia situation, a non-overlapping 95% binomial confidence interval could be observed when a sensitivity increases from 55% to 85% and tested with a sample size of 40. As the inclusion strategy was to be consecutive, and TB prevalence was expected to be between 30% and 40% at the lower CD4 strata, a reasonable sample size would be between 100 and 133.

Although Xpert was unavailable at Brazil in the beginning of the study, its' design allowed the analyses of this test in TB diagnosis algorithm.

Results

There were 278 patients screened and 199 enrolled between August, 2014 and December, 2015. Among those not eligible 25 were HIV negative, one had no cough neither suspected chest X-ray, 45 had CD4 counts >200 cells/mm³, one could not

provide urine, six did not provide a respiratory sample and one used TB drugs previously (S1 Fig). Of the 199 enrolled patients, 127 were men and 72 were women, the mean (standard deviation) age was 39.06 (± 9.95) years and the median CD4 count was 42 (IQR 19-82) cells/mm³ at enrollment. There was no difference regarding clinical characteristics between LAM negative and positive patients, except for CD4 counts. Most LAM positive patients (83.78%) had a CD4 count ≤ 50 cells/mm³ (Table 1). Eighty-nine patients presented chest images suggestive of TB and only 8/89 presented cavitation – the most typical pulmonary abnormality observed in TB. Among these 8 patients, 2 had CD4 ≤ 50 cells/mm³, 2 had CD4 between 51 and 100 cells/mm³ and the other 4 had CD4 between 101 and 200 cells/mm³.

	LAM Negative	LAM Positive	Total	Statistic Test	P Value
Total	162	37	199		
Gender					
Male	100 (61.73)	27 (72.97)	127 (63.82)	Chisq. (1 df) = 1.198	0.274
Female	62 (38.27)	10 (27.03)	72 (36.18)		
Age					
Mean (SD)	39.76 (10.01)	36.00 (9.16)	39.06 (9.95)	t-test (198 df) = 2.090	0.038
CD4	51	25 (15,39)	42 (19,82)	Rannksum test	< 0.001
counts median (IQR)	(22.3,90.8)				
CD4					
[0,50]	81 (50.00)	31 (83.78)	112 (56.28)	Chi-square (2df) = 14.603	< 0.001
(50,100]	47 (29.01)	5 (13.51)	52 (26.13)		
(100,200]	34 (20.99)	1 (2.70)	35 (17.59)		
Chest Xray					
suggestive of TB?					
No	66 (43.42)	12 (34.29)	78 (41.71)	Chi-square (2df) = 2.961	0.228
Yes	68 (44.74)	21 (60.00)	89 (47.59)		
Inespecific abnormalities	18 (11.84)	2 (5.71)	20 (10.70)		
Night sweats since					
beginning					
of symptoms?					
No	66 (40.74)	10 (27.03)	76 (38.19)	Fisher's exact test	0.137
Yes	96 (59.26)	27 (72.97)	123 (61.81)		
Dyspnoea since					
beginning					
of symptoms?					
No	46 (28.40)	10 (27.03)	56 (28.14)	Fisher's exact test	1
Yes	116 (71.60)	27 (72.97)	143 (71.86)		
Cough since					
beginning					
of symptoms?					
No	9 (5.56)	4 (10.81)	13 (6.53)	Fisher's exact	0.268
Yes	153 (94.44)	33 (89.19)	186 (93.47)		
Hemoptysis since					
beginning					
of symptoms?					
No	134 (82.72)	33 (89.19)	167 (83.92)	Fisher's exact	0.745
Yes	24 (14.81)	4 (10.81)	28 (14.07)		
Don't know	4 (2.47)	0 (0.00)	4 (2.01)		
Chest pain since					
beginning					
of symptoms?					
No	68 (41.98)	17 (45.95)	85 (42.71)	Fisher's exact	0.768
Yes	93 (57.41)	20 (54.05)	113 (56.78)		
Don't know	1 (0.62)	0 (0.00)	1 (0.50)		

	LAM Negative	LAM Positive	Total	Statistic Test	P Value
Total	162	37	199		
Gender					
Male	100 (61.73)	27 (72.97)	127 (63.82)	Chisq. (1 df) = 1.198	0.274
Female	62 (38.27)	10 (27.03)	72 (36.18)		
Age					
Mean (SD)	39.76 (10.01)	36.00 (9.16)	39.06 (9.95)	t-test (198 df) = 2.090	0.038
CD4	51	25 (15,39)	42 (19,82)	Rannksum test	< 0.001
counts median (IQR)	(22.3,90.8)				
CD4					
[0,50]	81 (50.00)	31 (83.78)	112 (56.28)	Chi-square (2df) = 14.603	< 0.001
(50,100]	47 (29.01)	5 (13.51)	52 (26.13)		
(100,200]	34 (20.99)	1 (2.70)	35 (17.59)		
Chest Xray					
suggestive of TB?					
No	66 (43.42)	12 (34.29)	78 (41.71)	Chi-square (2df) = 2.961	0.228
Yes	68 (44.74)	21 (60.00)	89 (47.59)		
Inespecific abnormalities	18 (11.84)	2 (5.71)	20 (10.70)		
Night sweats since					
beginning					
of symptoms?					
No	66 (40.74)	10 (27.03)	76 (38.19)	Fisher's exact test	0.137
Yes	96 (59.26)	27 (72.97)	123 (61.81)		
Dyspnoea since					
beginning					
of symptoms?					
No	46 (28.40)	10 (27.03)	56 (28.14)	Fisher's exact test	1
Yes	116 (71.60)	27 (72.97)	143 (71.86)		
Cough since					
beginning					
of symptoms?					
No	9 (5.56)	4 (10.81)	13 (6.53)	Fisher's exact	0.268
Yes	153 (94.44)	33 (89.19)	186 (93.47)		
Hemoptysis since					
beginning					
of symptoms?					
No	134 (82.72)	33 (89.19)	167 (83.92)	Fisher's exact	0.745
Yes	24 (14.81)	4 (10.81)	28 (14.07)		
Don't know	4 (2.47)	0 (0.00)	4 (2.01)		
Chest pain since					
beginning					
of symptoms?					
No	68 (41.98)	17 (45.95)	85 (42.71)	Fisher's exact	0.768
Yes	93 (57.41)	20 (54.05)	113 (56.78)		
Don't know	1 (0.62)	0 (0.00)	1 (0.50)		

History of TB or TB previous treatment?							
No	121 (74.69)	30 (81.08)	151 (75.88)	Fisher's exact	0.779		
Yes	39 (24.07)	7 (18.92)	46 (23.12)				
Don't know	2 (1.23)	0 (0.00)	2 (1.01)				
TB clinical form							
Pulmonary	18 (11.11)	16 (43.24)	34 (17.09)	Fisher's exact	0.590		
Pleuropulmonary	2 (1.23)	0 (0.00)	2 (1.01)				
Disseminated	6 (3.70)	7 (18.92)	13 (6.53)				
Extrapulmonary	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)				

Table 1 Absolute and relative frequencies of clinical characteristics at TB investigation by LAM result (relative frequencies are in parenthesis, except as otherwise indicated).

Most patient could provide spontaneous sputum for the first respiratory sample, but 54.3% didn't collected the second sample. More detailed information about diagnostic tests are in S1 Table.

TB prevalence was 18.6% and 24.6% according to LAM and Mtb culture, respectively. LAM's overall accuracy was 79.9% (73.8%-84.9%). Positive and negative predictive values were 62.2% (46.1%-75.9%) and 84% (77.5%-88.8%), respectively. The overall sensitivity and specificity of LAM was 46.9% (33.7%-60.6%) and 90.7% (84.9%-94.4%), respectively (Fig 1).

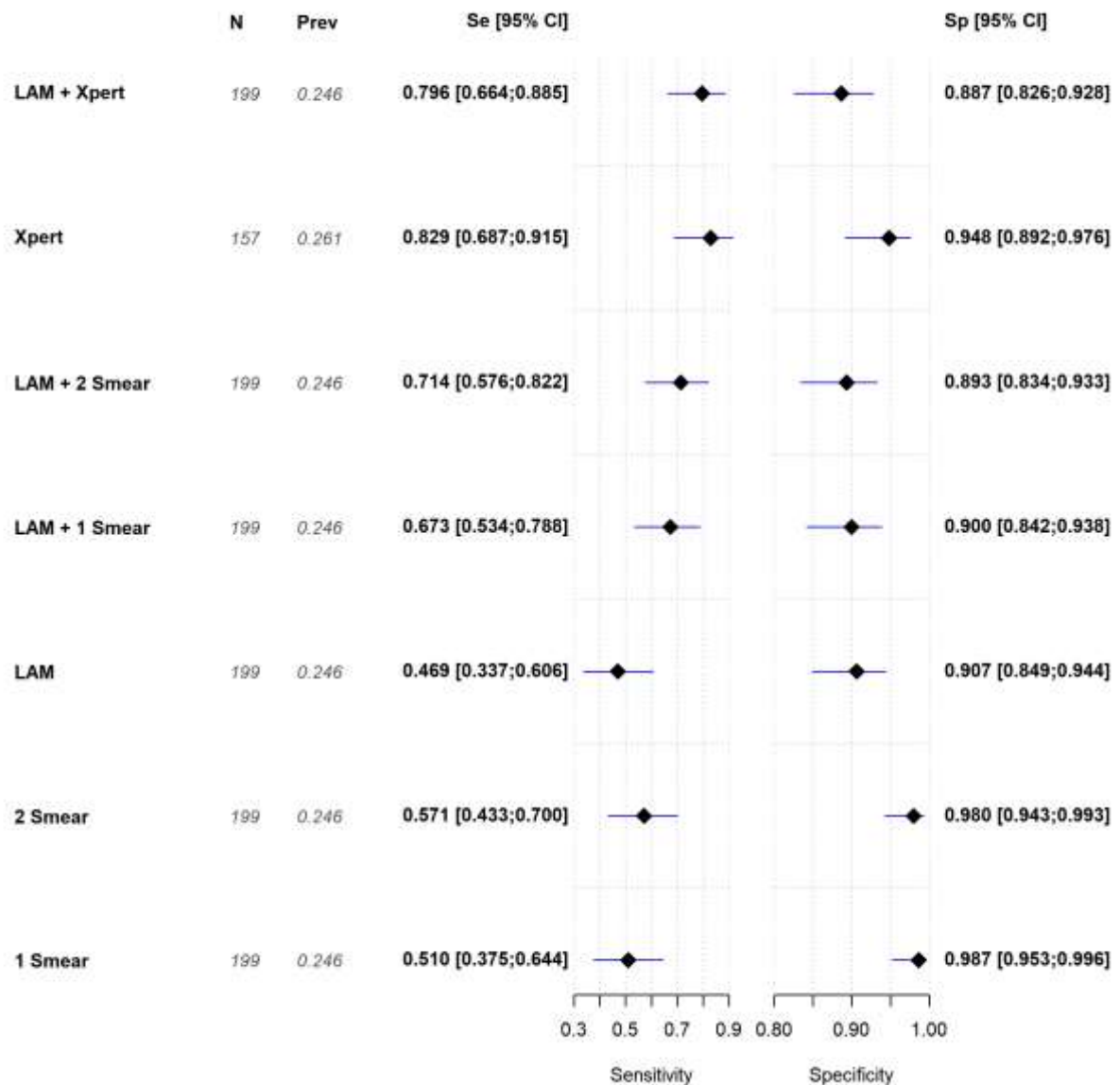


Fig 1 Forest plot with sensitivity and specificity for different combination of tests in overall population.

The best performance of LAM was observed among patients with CD4 counts ≤ 50 cells/mm³, where sensitivity was 70.4% (51.5%-84.1%) and specificity was 85.9% (76.9%-91.7%). When two smears microscopy were combined with LAM, sensitivity was increased by 22% when compared to two smears alone, achieving a sensitivity close to Xpert. Furthermore, LAM combined with two smears was as sensitive as when combined to a single smear. LAM did not add sensitivity when combined to Xpert when compared to Xpert alone (Fig 2). For patients with higher CD4 cell counts, LAM's sensitivity was too low to explore combinations either with Xpert or sputum smear.

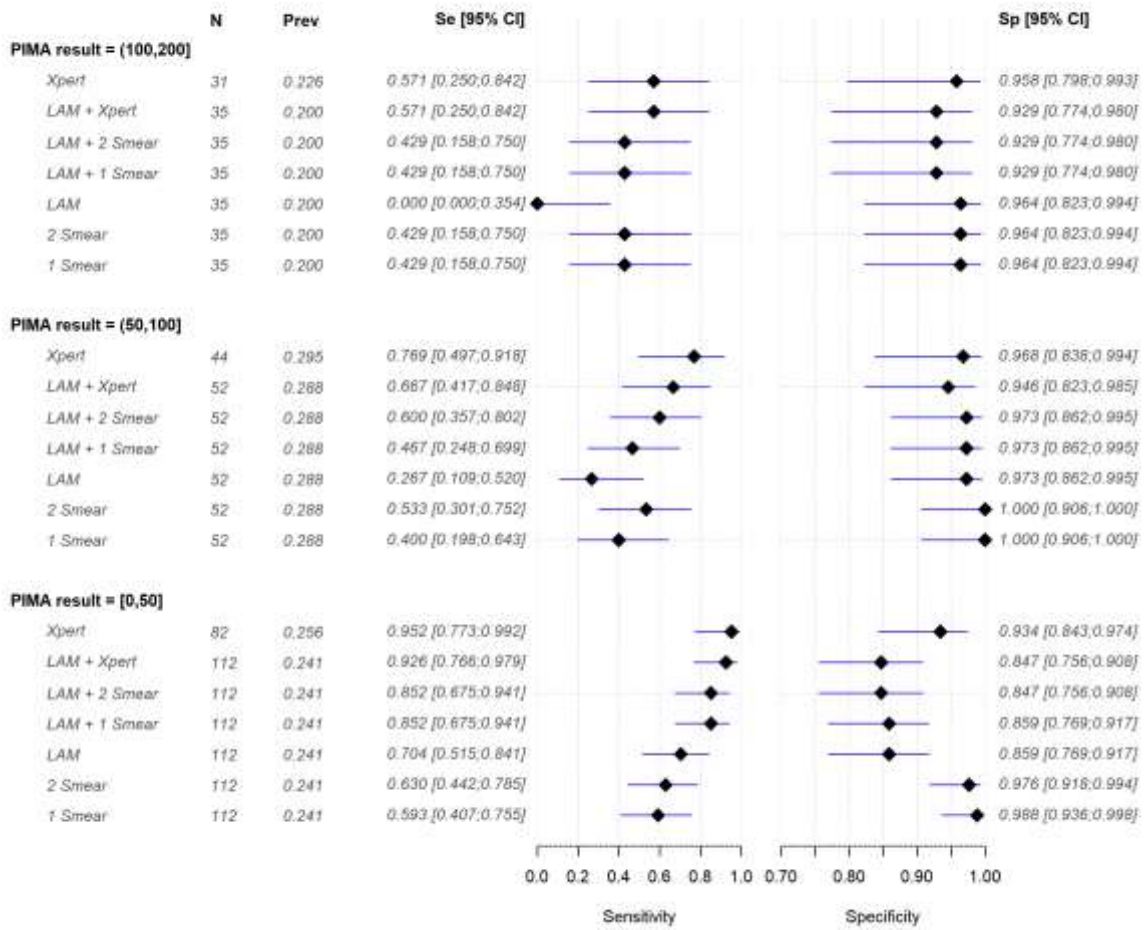


Fig 2 Forest plot with sensitivity and specificity for different combination of tests in different strata of CD4.

There were 14 false positive LAM results. In three cases, Non-Tuberculosis Mycobacteria grew in culture.

Discussion

In our study, the accuracy of LAM was low in overall population, but was better in patients with low CD4 cell counts, as already reported (BALCHA et al., 2014b; DRAIN et al., 2017; LAWN et al., 2012a; PETER et al., 2012a). The greatest benefit of LAM was observed in patients with CD4 counts ≤ 50 cells/mm³. LAM increased TB diagnosis when associated with smear microscopy, achieving a sensitivity close to Xpert, indicating what could be an interesting option for settings with poor diagnosis infrastructure. In addition, LAM could be combined with a single smear, without decreasing sensitivity, speeding up the diagnosis. LAM did not improve TB diagnosis when associated with Xpert, as observed by other authors (LAWN et al., 2012a). However, Xpert was included in the Brazilian diagnosis algorithm during the study and

only 73.2% of those with CD4 \leq 50 cells/mm³ were tested for Xpert. The lower number of cases could have influenced these analyses.

One of the pillars for decreasing TB incidence is the rapid diagnosis (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Even today, a timely diagnosis is a limiting factor for early detection of TB, especially in developing countries where it is difficult for established laboratories to perform Mtb culture for high burden locations. Therefore, in many countries, the TB diagnosis is still based on smears and chest X-rays, which have low sensitivity and specificity. In PLHIV, the diagnosis is even more complex, since immunosuppression prevents the formation of granuloma, reducing the pulmonary cavities, resulting in atypical chest images (MURRAY, 2005; N'DHATZ et al., 1994). Additionally, immunosuppressed individuals are paucibacillary and therefore more susceptible to have negative smear microscopy (ELLIOTT et al., 1993; JOHNSON et al., 1998a), which may lead to empirical or misleading treatments. Indeed, we observed a low number of patients with pulmonary cavity and a high number of negative smears in our study. Thus, the rapid TB diagnosis in immunodeficient patients is still a challenge.

Xpert was a breakthrough in TB diagnosis due to its rapid and high accuracy, thereby decreasing time to initiate treatment (BOEHME et al., 2010). Although Brazilian TB diagnosis algorithms have included Xpert since 2014, this test is not available throughout the country and is not a real point of care (PoC) test as most equipment are located in Mycobacteria laboratories. The most important criteria to allocate GeneXpert was regional TB incidence. Therefore, the machine was first provided to 92 municipalities. Additionally, nine others were provided for research purposes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015b). In low TB burden areas, smear microscopy is still the first method to diagnose TB in PLHIV and definitive diagnosis remains based on culture results.

There are limitations to making Xpert easily available in many health units. Xpert requires stable electric power and air conditioning, which can be an obstacle in low income countries. After one year of implementation, electrical power problems and local high temperature were common problems in Brazil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015b). In order to improve TB diagnosis in poor settings, a real" PoC" test is one which is quick, easy to perform and that could be used close to patients. LAM combined with smear microscopy could increase TB diagnosis in Brazil, as Xpert is not fully available in all health facilities. In addition, urine is an easy to get specimen and LAM

does not need biosafety protocols. It can even be performed at the bedside allowing for a TB diagnosis in different settings where PLHIV access health care. As PLHIV usually have difficulties in providing sputum, urine becomes a suitable biological sample for TB testing (ELLIOTT et al., 1993).

Severely immunodeficient patients may also have disease caused by NTM more frequently and there is a similarity between Mtb and other Mycobacteria lipoarabinomannan. Therefore, attention must be paid to cases of NTM diagnosed with a positive LAM. In this study, NTM were detected in three patients with positive LAM results. As we know, Mycobacterial cultures have limitations and can be affected by inadequate or insufficient sample, especially when patient has already started TB treatment. Therefore, positive LAM tests without a positive culture should be considered in some circumstances. In addition, recent studies had shown that LAM could potentially reduce mortality in PLHIV admitted to hospitals (GUPTA-WRIGHT et al., 2018; PETER et al., 2016) due to an increase in TB diagnosis.

Our study has limitations as Xpert was included in the protocol latter, reducing the chance to fully observe its behavior in Brazilian algorithm. However, our straightness was to include more than 50% participants with very low CD4 counts allowing a good analysis on LAM performance in this specific group.

In conclusion, LAM is a real PoC test and should be used in combination with smear microscopy for TB diagnosis in immunosuppressed PLHIV. If CD4 counts are unknown, some clinical characteristics are indicative of immunosuppression and could predict a low CD4 count, being helpful to select which patients should be tested.

Although there have been previous Brazilian studies about LAM in leprosy (FERREIRA MEDEIROS et al., 2014; NAHAS et al., 2018) this is the first study using Determine TB LAM Ag conducted in Brazil using the national algorithm in established clinical sites demonstrating that LAM should be used in sites with high burden of HIV to improve the rapid diagnosis of TB.

References

1. N'Dhartz M, Domoua K, Coulibaly G, Traore F, Kanga K, Konan JB, et al. [Aspects of thoracic radiography of patients with tuberculosis and HIV infection in Ivory Coast]. *Rev Pneumol Clin*. 1994;50: 317–322.
2. Murray JF. Pulmonary complications of HIV-1 infection among adults living in sub-Saharan Africa [State of the Art Series. HIV infection in low-income, high-burden

settings, Edited by JF Murray. Number 4 in the series]. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2005;9: 826–835.

3. Elliott AM, Namaambo K, Allen BW, Luo N, Hayes RJ, Pobee JO, et al. Negative sputum smear results in HIV-positive patients with pulmonary tuberculosis in Lusaka, Zambia. *Tuber Lung Dis.* 1993;74: 191–194. doi:10.1016/0962-8479(93)90010-U
4. Johnson JL, Vjecha MJ, Okwera A, Hatanga E, Byekwaso F, Wolski K, et al. Impact of human immunodeficiency virus type-1 infection on the initial bacteriologic and radiographic manifestations of pulmonary tuberculosis in Uganda. Makerere University-Case Western Reserve University Research Collaboration. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1998;2: 397–404.
5. Ministério da Saúde. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília/DF: Ministério da Saúde : Secretaria de Vigilância em Saúde : Departamento de Vigilância Epidemiológica; 2011.
6. Ministério da Saúde. Recomendações sobre o diagnóstico da tuberculose por meio do teste rápido molecular para tuberculose. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica; 2014.
7. Flores LL, Steingart KR, Dendukuri N, Schiller I, Minion J, Pai M, et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Antigen Detection Tests for the Diagnosis of Tuberculosis. *Clinical and Vaccine Immunology.* 2011;18: 1616–1627. doi:10.1128/CVI.05205-11
8. Minion J, Leung E, Talbot E, Dheda K, Pai M, Menzies D. Diagnosing tuberculosis with urine lipoarabinomannan: systematic review and meta-analysis. *European Respiratory Journal.* 2011;38: 1398–1405. doi:10.1183/09031936.00025711
9. Lawn SD, Kerkhoff AD, Vogt M, Wood R. Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study. *The Lancet infectious diseases.* 2012;12: 201–209.
10. WORLD HEALTH ORGANIZATION. The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV. Policy guidance. [Internet]. Geneva, Switzerland; 2015. Available: http://www.who.int/entity/tb/areas-of-work/laboratory/policy_statement_lam_web.pdf?ua=1
11. Ministério da Saúde. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica; 2008.
12. Balcha TT, Winqvist N, Sturegård E, Skogmar S, Reepalu A, Jemal ZH, et al. Detection of lipoarabinomannan in urine for identification of active tuberculosis among HIV-positive adults in Ethiopian health centres. *Trop Med Int Health.* 2014;19: 734–742. doi:10.1111/tmi.12308

13. Peter JG, Theron G, van Zyl-Smit R, Haripersad A, Mottay L, Kraus S, et al. Diagnostic accuracy of a urine lipoarabinomannan strip-test for TB detection in HIV-infected hospitalised patients. *Eur Respir J.* 2012;40: 1211–1220. doi:10.1183/09031936.00201711
14. Drain PK, Losina E, Coleman SM, Giddy J, Ross D, Katz JN, et al. Clinic-Based Urinary Lipoarabinomannan as a Biomarker of Clinical Disease Severity and Mortality Among Antiretroviral Therapy-Naive Human Immunodeficiency Virus-Infected Adults in South Africa. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4. doi:10.1093/ofid/ofx167
15. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis report 2018. Geneva, Switzerland; 2018.
16. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *New England Journal of Medicine.* 2010;363: 1005–1015.
17. Ministério da Saúde. Rede de Teste Rápido para Tuberculose no Brasil : primeiro ano da implantação. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis; 2015.
18. Peter JG, Zijenah LS, Chanda D, Clowes P, Lesosky M, Gina P, et al. Effect on mortality of point-of-care, urine-based lipoarabinomannan testing to guide tuberculosis treatment initiation in HIV-positive hospital inpatients: a pragmatic, parallel-group, multicountry, open-label, randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387: 1187–1197. doi:10.1016/S0140-6736(15)01092-2
19. Gupta-Wright A, Corbett EL, van Oosterhout JJ, Wilson D, Grint D, Alufandika-Moyo M, et al. Rapid urine-based screening for tuberculosis in HIV-positive patients admitted to hospital in Africa (STAMP): a pragmatic, multicentre, parallel-group, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet.* 2018;392: 292–301.
20. Ferreira Medeiros M, Jardim MR, Vital RT, Nery JA da C, Sales AM, de Moraes MO, et al. An Attempt to Improve Pure Neural Leprosy Diagnosis Using Immunohistochemistry Tests in Peripheral Nerve Biopsy Specimens: *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology.* 2014;22: 222–230. doi:10.1097/PAI.0b013e31828dc70c
21. Nahas AA, Lima MI de S, Goulart IMB, Goulart LR. Anti-Lipoarabinomannan-Specific Salivary IgA as Prognostic Marker for Leprosy Reactions in Patients and Cellular Immunity in Contacts. *Frontiers in Immunology.* 2018;9. doi:10.3389/fimmu.2018.01205

Supporting information

S1 Fig. STARD flow diagram. Patient flow and Mtb culture (reference test) result.

S1 Table. Absolute and relative frequencies of diagnostic tests at TB investigation by LAM result.

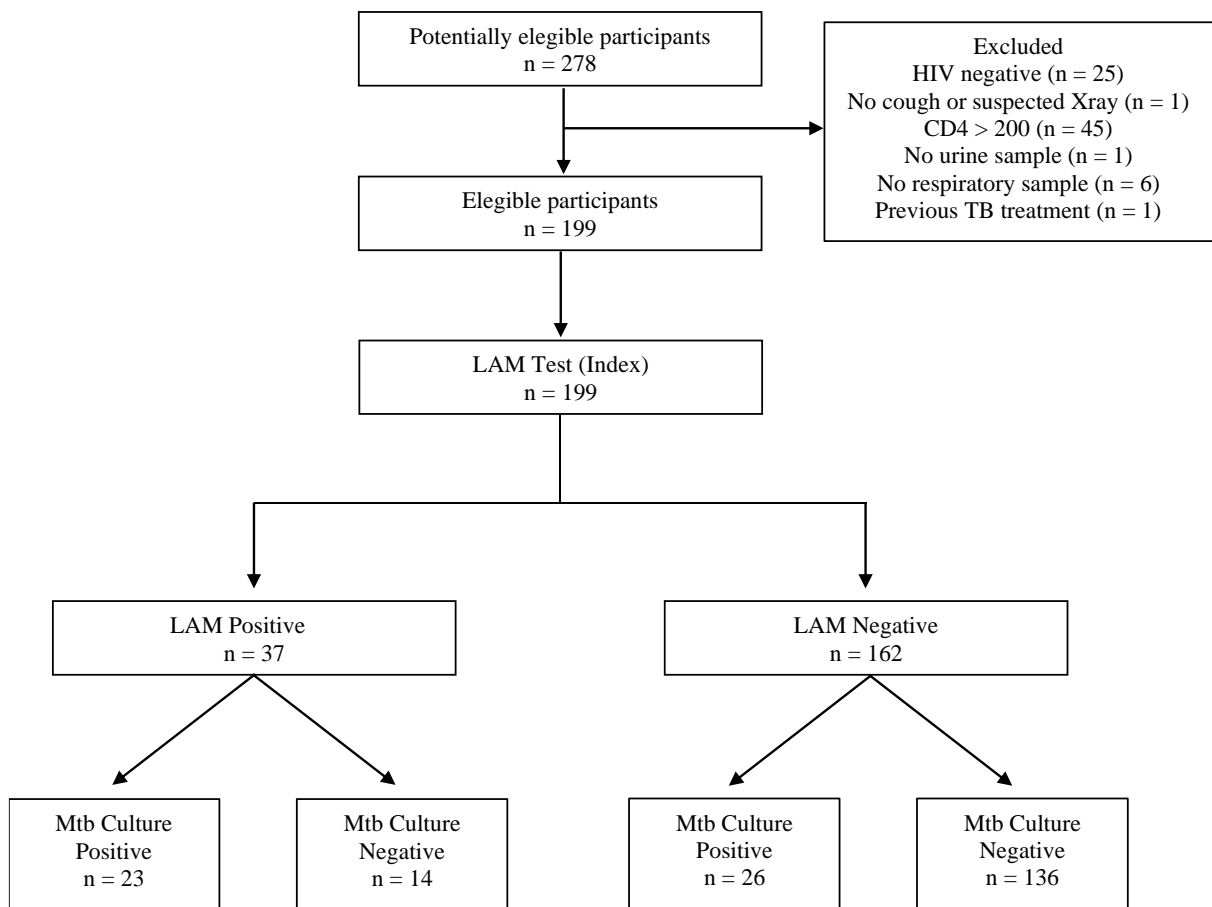
S1 File. STARD checklist.

S2 File. Data_LAM_final.csv

S3 File. Data_LAM_final.RData

S4 File. Describe_LAM_final.txt

S1 Fig. STARD flow diagram. Patient flow and Mtb culture (reference test) result.



S1 Table Absolute and relative frequencies of diagnostic tests at TB investigation by LAM result (relative frequencies are in parenthesis). Xpert was introduced during the study and were performed in 157 participants.

	LAM Negative	LAM Positive	Total	Statistic Test	P Value
Total	162	37	199		
Sputum collection (sample 1)					
Spontaneous	116 (71.60)	21 (56.76)	137 (68.84)	Fisher's exact	0.056
Induced	42 (25.93)	14 (37.84)	56 (28.14)		
BAL	1 (0.62)	2 (5.41)	3 (1.51)		
Tracheal secretion	3 (1.85)	0 (0.00)	3 (1.51)		
Sputum collection (sample 2)					
Spontaneous	65 (40.12)	14 (37.84)	79 (39.70)	Fisher's exact	0.853
Induced	5 (3.09)	0 (0.00)	5 (2.51)		
BAL	3 (1.85)	0 (0.00)	3 (1.51)		
Tracheal secretion	3 (1.85)	1 (2.70)	4 (2.01)		
Not done	86 (53.09)	22 (59.46)	108 (54.27)		
Sputum smear result (sample 1)					
Negative	151 (93.21)	21 (56.76)	172 (86.43)	Fisher's exact	< 0.001
Rare bacillus	1 (0.62)	4 (10.81)	5 (2.51)		
Positive +	3 (1.85)	6 (16.22)	9 (4.52)		
Positive ++	2 (1.23)	5 (13.51)	7 (3.52)		
Positive +++	5 (3.09)	1 (2.70)	6 (3.02)		
Sputum smear result (sample 2)					
Negative	69 (90.79)	10 (66.67)	79 (86.81)	Fisher's exact	0.018
Rare bacillus	1 (1.32)	0 (0.00)	1 (1.10)		
Positive +	3 (3.95)	1 (6.67)	4 (4.40)		
Positive ++	2 (2.63)	1 (6.67)	3 (3.30)		
Positive +++	1 (1.32)	3 (20.00)	4 (4.40)		
Xpert® MTB/RIF					
Negative	110 (73.33)	7 (20.59)	117 (63.59)	Fisher's exact test	< 0.001
Positive	19 (12.67)	21 (61.76)	40 (21.74)		
Not done	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)		
Sputum culture result (sample 1)					
Negative	107 (66.88)	10 (27.03)	117 (59.39)	Fisher's exact test	< 0.001
MTB	20 (12.50)	22 (59.46)	42 (21.32)		
Other mycobacteria	5 (3.12)	3 (8.11)	8 (4.06)		
Contaminated	28 (17.50)	2 (5.41)	30 (15.23)		
Sputum culture result (sample 2)					
Negative	49 (30.25)	4 (10.81)	53 (26.63)	Fisher's exact test	0.020
MTB	11 (6.79)	5 (13.51)	16 (8.04)		
Other mycobacteria	0 (0.00)	1 (2.70)	1 (0.50)		
Contaminated	11 (6.79)	2 (5.41)	13 (6.53)		

Not done	91 (56.17)	25 (67.57)	116 (58.29)		
Blood culture result (sample 1)					
Negative	147 (91.88)	26 (70.27)	173 (87.82)		
MTB	0 (0.00)	8 (21.62)	8 (4.06)	Fisher's exact test	< 0.001
Other mycobacteria	0 (0.00)	2 (5.41)	2 (1.02)		
Contaminated	2 (1.25)	0 (0.00)	2 (1.02)		
Not done	11 (6.88)	1 (2.70)	12 (6.09)		
Blood culture result (sample 2)					
Negative	94 (58.75)	12 (33.33)	106 (54.08)		
MTB	0 (0.00)	5 (13.89)	5 (2.55)	Fisher's exact test	< 0.001
Other mycobacteria	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)		
Contaminated	1 (0.62)	0 (0.00)	1 (0.51)		
Not done	65 (40.62)	19 (52.78)	84 (42.86)		
Blood culture result (sample 3)					
Negative	85 (53.12)	11 (29.73)	96 (48.73)		
MTB	1 (0.62)	4 (10.81)	5 (2.54)	Fisher's exact test	< 0.001
Other mycobacteria	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)		
Contaminated	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)		
Not done	74 (46.25)	22 (59.46)	96 (48.73)		
Specimen from other sites					
Ganglionic	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)		
Pleural	1 (0.62)	0 (0.00)	1 (0.50)	Fisher's exact test	0.043
Liquids	2 (1.23)	3 (8.11)	5 (2.51)		
Other biopsies	1 (0.62)	1 (2.70)	2 (1.01)		
Not done	158 (97.53)	33 (89.19)	191 (95.98)		
Results from other sites					
Negative	3 (75.00)	3 (75.00)	6 (75.00)		
MTB	1 (25.00)	0 (0.00)	1 (12.50)	Fisher's exact test	1.000
Other mycobacteria	0 (0.00)	1 (25.00)	1 (12.50)		
Contaminated	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)		

S1 File. STARD checklist.

Section & Topic	No	Item	Reported on page #
TITLE OR ABSTRACT			
	1	Identification as a study of diagnostic accuracy using at least one measure of accuracy (such as sensitivity, specificity, predictive values, or AUC)	#1 (Title)
ABSTRACT			
	2	Structured summary of study design, methods, results, and conclusions (for specific guidance, see STARD for Abstracts)	#2 (Abstract)
INTRODUCTION			
	3	Scientific and clinical background, including the intended use and clinical role of the index test	#3(Introduction)
	4	Study objectives and hypotheses	#3(Introduction)
METHODS			
<i>Study design</i>	5	Whether data collection was planned before the index test and reference standard were performed (prospective study) or after (retrospective study)	#4 (Materials and Methods, Study Design subsection)
<i>Participants</i>	6	Eligibility criteria	#4 (Materials and Methods, Participants subsection)
	7	On what basis potentially eligible participants were identified (such as symptoms, results from previous tests, inclusion in registry)	#4 (Materials and Methods, Participants subsection)
	8	Where and when potentially eligible participants were identified (setting, location and dates)	#4 (Materials and Methods, Study Design subsection; dates are in Results.)
	9	Whether participants formed a consecutive, random or convenience series	#4 (Materials and Methods, Study Design subsection)
<i>Test methods</i>	10a	Index test, in sufficient detail to allow replication "assays were performed according to manufacturers' package inserts"	#5 (Materials and Methods, Study Procedures subsection)
	10b	Reference standard, in sufficient detail to allow replication Standard test was done according to Brazilian TB Guidelines.	#5 (Materials and Methods, Study Procedures subsection)
	11	Rationale for choosing the reference standard (if alternatives exist) Reference test is only cited as Mtb culture is a widely accepted reference test.	#5 (Materials and Methods, Study Procedures subsection)
	12a	Definition of and rationale for test positivity cut-offs or result categories of the index test, distinguishing pre-specified from exploratory	Not applicable
	12b	Definition of and rationale for test positivity cut-offs or result categories of the reference standard, distinguishing pre-specified from exploratory	Not applicable
	13a	Whether clinical information and reference standard results were available to the performers/readers of the index test Clinical information was available to site nurses who also read the LAM test.	#4 (Materials and Methods, Participants subsection)

		Mtb culture was not available since it takes around 4-8 weeks to be released.	
	13b	Whether clinical information and index test results were available to the assessors of the reference standard "Laboratories staffs were blinded to patient's clinical data and LAM results."	#5 (Materials and Methods, Study Procedures subsection)
<i>Analysis</i>	14	Methods for estimating or comparing measures of diagnostic accuracy	#5 Materials and Methods, Study Procedures subsection)
	15	How indeterminate index test or reference standard results were handled There weren't indeterminate results.	Not applicable
	16	How missing data on the index test and reference standard were handled All participants had index (LAM) and reference tests (culture) performed. *Xpert was introduced latter and therefore some results were missing but this was not a study test a priori.	Not applicable
	17	Any analyses of variability in diagnostic accuracy, distinguishing pre-specified from exploratory	#5
	18	Intended sample size and how it was determined	#6 (Materials and Methods, Sample Size subsection)
RESULTS			
<i>Participants</i>	19	Flow of participants, using a diagram	Supporting figure 1
	20	Baseline demographic and clinical characteristics of participants	Table 1
	21a	Distribution of severity of disease in those with the target condition Severity of disease can be assessed by TB clinical forms and CD4 counts.	Table 1, Fig 2
	21b	Distribution of alternative diagnoses in those without the target condition It was a cross-sectional study, so no follow up was planned in the study design. Even so, we could detect 3 NTM cases (Discussion).	Not applicable
	22	Time interval and any clinical interventions between index test and reference standard	Not applicable
<i>Test results</i>	23	Cross tabulation of the index test results (or their distribution) by the results of the reference standard These results are clearly available in STARD diagram	Supporting figure 1
	24	Estimates of diagnostic accuracy and their precision (such as 95% confidence intervals)	Fig1, Fig 2
	25	Any adverse events from performing the index test or the reference standard	Not applicable
DISCUSSION			
	26	Study limitations, including sources of potential bias, statistical uncertainty, and generalisability	#11, #12 (Discussion)
	27	Implications for practice, including the intended use and clinical role of the index test	#13 (Discussion)
OTHER INFORMATION			
	28	Registration number and name of registry As per Brazilian Guidelines, this study was approved by National Research Ethics Committee under CAAE number 439.001	#3 (Materials and Methods, Ethical Statement subsection)
	29	Where the full study protocol can be accessed However, data has been included as a Supporting Information	Not applicable

30	Sources of funding and other support; role of funders
-----------	---

#13 (Financial Disclosure Statement, Acknowledgements)
--

3.2 ARTIGO 2

Aline Benjamin

DETERMINE TB-LAM AG COSTS IN BRAZILIAN SETTINGS

Orientadora: Valeria Cavalcanti Rolla

Coorientadora: Solange Cesar Cavalcante

Rio de Janeiro

2021

Artigo 2. Submetido como *Communication* à revista *Diagnostics* em uma edição especial intitulada "Point-of-Care Diagnostics for Low-Resource Settings"

Communication

Determine TB-LAM Ag costs in Brazilian settings

Aline Benjamin¹, Solange Cesar Cavalcante², Leda Fátima Jamal³, Denise Arakaki-Sanchez⁴, Josué Nazareno de Lima⁴, Jose Henrique Pilotto^{5,6}, Francisco Ivanildo de Oliveira Junior⁷, Tâmara Newman Lobato Souza⁷, Maria Cristina Lourenço⁸, Maeve Brito de Mello⁹, Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil¹⁰, Draurio Barreira¹¹, Valeria Cavalcanti Rolla¹

¹Clinical Research Laboratory on Mycobacteria, National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; aline.benjamin@ini.fiocruz.br; valeria.rolla@ini.fiocruz.br

²Municipal Health Secretariat of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; drsocavalcante@yahoo.com.br

³Center for Reference and Training STD/AIDS, São Paulo, Brazil; lejamal@crt.saude.gov.br

⁴National Tuberculosis Program, Ministry of Health, Brasília, Brazil; denise.arakaki@saude.gov.br; josue.lima@saude.gov.br

⁵STD/AIDS Service, Nova Iguaçu General Hospital, Rio de Janeiro, Brazil

⁶Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil; pilotto@ioc.fiocruz.br

⁷Institute of Infectious Diseases Emilio Ribas, São Paulo, Brazil; francisco.junior@emilioribas.sp.gov.br; tamara.souza@emilioribas.sp.gov.br

⁸Bacteriology and Bioassay Laboratory, National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil; cristina.lourenco@ini.fiocruz.br

⁹World Health Organization, Geneva, Switzerland; demellmae@who.int

¹⁰Clinical Research Laboratory on Immunization and Surveillance in Health, National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil; pedro.brasil@ini.fiocruz.br

¹¹Unitaid, Geneva, Switzerland; barreirad@unitaid.who.int

*Correspondence: aline.benjamin@ini.fiocruz.br

Abstract: Early tuberculosis (TB) diagnosis remains a challenge for its care and control, especially in low-income countries and those with high prevalence of people living with HIV (PLHIV). As point of care tests, performed alongside the patients, can accelerate diagnosis,

we previously performed a Determine TB-LAM Ag (LAM) accuracy study in Brazil. As cost is a relevant feature to public health systems, our goal is to estimate it and suggest the best and cheaper TB diagnosis strategy for PLHIV. Thus, we compared costs between using LAM for all PLHIV with signs and symptoms (S/S) of TB or using LAM only for those with S/S of TB and $CD4 \leq 200$ cells/mm³. PLHIV over 18 years were screened to detect S/S of TB and submitted to a CD4 cell count rapid detection test (PIMA). Those with $CD4 \leq 200$ cells/mm³ were tested for LAM. We evaluated 244 PLHIV with S/S of TB and 18.4% had $CD4 > 200$ cells/mm³. When PIMA test was used to screen patients with low CD4 counts before using LAM, cost increased by 314%. Thus, we propose using LAM for all PLHIV with S/S of TB as part of an alternative diagnostic algorithm in HIV services of low-income countries, with high TB burden, to help to speed up TB diagnosis.

Keywords: tuberculosis; HIV; diagnosis; point-of-care; LAM

1. Introduction

End TB Strategy is a World Health Organization (WHO) global strategy for tuberculosis (TB) prevention, care and control for 2015–2035. It prioritizes the early diagnosis of TB (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015a). Indeed, a timely diagnosis is a limiting factor for early detection of TB, especially in people living with HIV (PLHIV) in developing countries. Determine TB-LAM (LAM) is point of care (PoC), lateral flow test, to diagnose TB using patient's urine. It's overall sensitivity is low but, unlike traditional methods, it improves in PLHIV with low CD4 cell count (LAWN et al., 2012a; MINION et al., 2011; PETER et al., 2012b). Our group first assessed LAM in Brazil for TB diagnosis in PLHIV with $CD4 < 200$ cells/mm³. We used another PoC test, CD4 PIMA, to provide absolute CD4 count in 20 minutes. We observed that the combination of LAM with a single sputum smear microscopy achieved a sensibility close to that of Xpert MTB/RIF (Xpert) in patients with $CD4$ counts ≤ 50 cells/mm³ [5]. Unfortunately, this molecular rapid test is not broadly available in all high TB burden countries (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a), so, the more rapid tests available, the better.

As price is a relevant reason for public health guidelines development, our goal is to estimate the cost of different TB diagnosis strategies for PLHIV and suggest the best one. We analyzed two strategies: A) use LAM for all PLHIV with signs and symptoms (S/S) of TB and unknown CD4 cell count result or B) first use CD4 PIMA to select, among PLHIV with S/S of TB, those with $CD4 \leq 200$ cells/mm³ to perform LAM.

2. Materials and Methods

It was a cross-sectional and multicenter study, with consecutive inclusion of patients, originally designed to evaluate LAM accuracy in Brazil. Study sites are public HIV reference health units in their localities: National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas and

Nova Iguaçu General Hospital, at Rio de Janeiro; Institute of Infectious Disease Emilio Ribas and Center for Reference and Training STD/AIDS at São Paulo.

PLHIV over 18 years were screened to detect S/S of TB – cough for at least 2 weeks and/or an abnormal chest radiography. Upper lobe opacity, lower lobe upper segment opacity, milliary pattern, mediastinal adenopathy, pleural effusion or cavitation were considered images suggestive of TB. Participants were also submitted to a rapid CD4 cell count test (CD4 PIMA), since having a $CD4 \leq 200$ cells/mm³ was one of the eligibility criteria for LAM testing. These both tests are from Abbott laboratories and were performed according to manufacturer's package insert (www.globalpointofcare.abbott). Each LAM strip was read by two independent nurses. In parallel, patients provided at least one sputum sample for smear microscopy, Xpert and culture as part of Brazilian routine for TB diagnosis. Further details are shown in Benjamin *et al* (BENJAMIN *et al.*, 2019).

CD4 PIMA and LAM costs were obtained from Abbott laboratories in Reais and converted into US Dollars in July/2021. LAM costs 3.00 USD/test and PIMA costs 10.00 USD/test, but it varies according to the amount of tests acquired. CD4 PIMA Analysers were provided free of charge by the manufacturer for the study.

3. Results

We evaluated 244 PLHIV with S/S of TB. Forty-five (18.4%) patients had $CD4 > 200$ cells/mm³ and 199 (81.6%) had $CD4 < 200$ cells/mm³. Using LAM to all PLHIV (244) with S/S of TB would cost 3.00 USD/patient, 732 USD in total (Strategy A). First use PIMA to screen low CD4 patients before using LAM would increase 10.00 USD/patient and the total cost would rise by 314%, to 3,037 USD (Strategy B). Both strategies are presented in Figure 1.

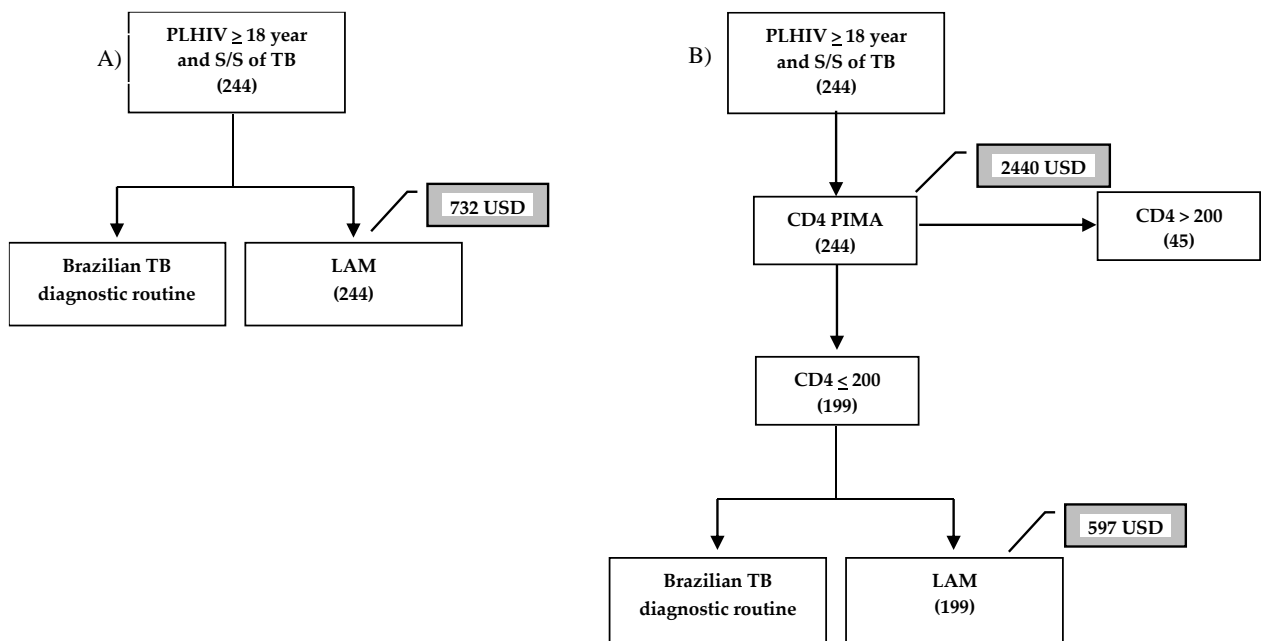


Figure 1. Two strategies analyzed: A) Use LAM to all people living with HIV with signs or symptoms of TB. B) Use LAM only in people living with HIV with signs or symptoms of TB and $CD4 \leq 200$.

There was 100% agreement in LAM reading and only one strip was read as indeterminate by both professionals (Table 1).

Table 1. Contingency table of LAM reading between two professionals.

LAM first reading	LAM second reading			Total
	Negative	Positive	Indeterminate	
Negative	161	0	0	161
Positive	0	37	0	37
Indeterminate	0	0	1	1
Total	161	37	1	199

We have previously reported a high sensitivity of LAM combined to a single sputum smear microscopy [5]. Furthermore, based on the costs, showed above, achieved in our study, which had a low proportion of patients with $CD4 > 200$ cell/mm³ (18.4%), we propose an alternative diagnostic algorithm to be implemented in HIV health services in low-income countries, with high TB burden, to faster diagnosis, where molecular rapid tests aren't widely available (Figure 2).

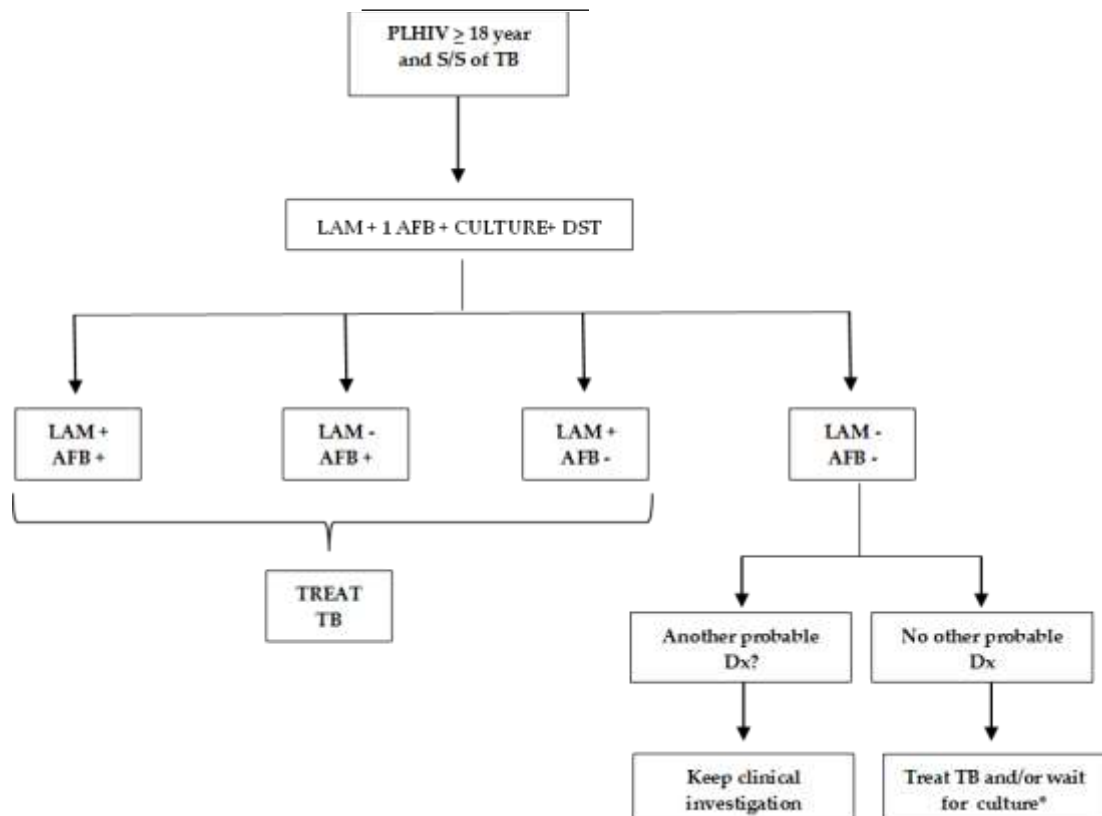


Figure 2. Alternative diagnostic algorithm for people living with HIV with signs or symptoms of tuberculosis for high burden tuberculosis low-income countries, in the absence of molecular rapid tests (LAM = Determine TB LAM Ag; AFB = acid fast bacilli; DST = Drug Susceptibility Test; TB = Tuberculosis; DX = diagnostic). *under clinical judgment

4. Discussion

For inpatient settings, WHO strongly recommends using LAM to assist in the diagnosis of TB in PLHIV with: 1) S/S of pulmonary and/or extrapulmonary TB; 2) with advanced HIV disease or who are seriously ill; 3) irrespective of S/S of TB and with a CD4 < 200 cells/mm³. In outpatient settings, WHO suggests using LAM to assist in the diagnosis of active TB in PLHIV with: 1) S/S of pulmonary and/or extrapulmonary TB or seriously ill; 2) irrespective of S/S of TB and with a CD4 cell count < 100 cells/mm³. WHO also recommends that all patients with S/S of pulmonary TB who are capable of producing sputum should have at least one sputum specimen submitted for Xpert (Ultra) assay (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

Although Xpert is a fast and highly accurate test, it is not widely distributed in low and middle-income countries. Among the 48 high TB burden countries, only 18 reported that a WHO-recommended rapid diagnostic test had been used as the initial test for more than half of their notified TB cases (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a). It suggests that the faster TB diagnosis continues to be centered in smear microscopy, which has low sensibility and specificity, especially in PLHIV (ELLIOTT et al., 1993; LEVY et al., 1989; LIPSKY et al., 1984), and is highly influenced by laboratory expertise.

There was an attenuation of Xpert's positive impact seen in clinical trials on patient outcomes, due to a lot of problems observed in its implementation, like the high cost to public health systems, lack of subsidies to the private health sector and unavailability of a complete package of solutions. Thus, the clinical impact was mitigated by weak health systems (ALBERT et al., 2016). Also, this technology requires lab infrastructure with stable electricity, temperature and humidity control and protection from dust, which can be a challenge in many places, including Brazil (Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational „How-to“; practical considerations., [s.d.]).

CD4 testing is critical for assessing immune status and is an essential component of high-quality services for PLHIV (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020b), but in clinical practice, a rapid CD4 count assay is not yet widely available in Brazil nor in other low and middle-income countries (CLINTON HEALTH ACCESS INITIATIVE, 2019). Clinical evaluation is poorly reliable as a proxy for CD4 count since up to 50% of PLHIV with advanced disease may be asymptomatic (HAKIM et al., 2017). So, it's hard to estimate CD4 count to decide whether LAM should be used. Furthermore, healthy services involved in our study are reference for PLHIV, with outpatients' attendance and inpatient services. Thus, supporting CD4 PIMA costs is not an advantage in a scenario like ours, where there is a high burden of TB associated with a high prevalence of advanced HIV disease. It is an expensive test and showed some technical

problems, which increases even more the costs. Even though this study was not designed to count the number of CD4 PIMA cartridges performed per patient, our practice showed that it was often necessary to use more than one cartridge/participant. It would result in an additional cost if the manufacturer did not have replaced them. Moreover, the PIMA machine costs 8,500 USD, but we believe a loan agreement is possible. Unfortunately, another problem associated with CD4 PIMA was the difficulty of having feedback from the manufacturer, the replacement of defective cartridges and the slow technical assistance.

The costs may be different in a scenario with lower prevalence of TB or less advanced immunosuppression, and fewer patients would benefit from using LAM. Thus, using PIMA to screen patients to be tested for LAM should be evaluated in different epidemiological settings.

Fujifilm SILVAMP TB LAM is another rapid test, which has been showing a higher sensitivity than LAM (BROGER et al., 2020b; “Novel lipoarabinomannan point-of-care tuberculosis test for people with HIV: a diagnostic accuracy study - The Lancet Infectious Diseases”, [s.d.]) but is not commercially available yet. Some studies are still ongoing to establish the performance of this test in clinical practice to provide WHO data to build an official recommendation.

Despite LAM sensitivity limitation, it is done in a urine sample, is easy, simple, reproducible, has low cost, and helps to reduce TB mortality among PLHIV (DRAIN et al., 2017; GUPTA-WRIGHT et al., 2018; PETER et al., 2016). It could be an add-on tool to clinical judgement, in combination with smear microscopy, for PLHIV in low-income countries, where Xpert is not broadly available.

Author Contributions: Conceptualization, A.B., S.C.C., V.C.R.; methodology, A.B., P.E.A.A.B., V.C.R.; software, P.E.A.A.B.; formal analysis, A.B., P.E.A.A.B., V.C.R.; investigation, L.F.J., J.H.P., F.I.O.J., T.N.L.S., V.C.R.; resources, D.A.S., M.B.M., D.B.; data curation, A.B., P.E.A.A.B.; writing—original draft preparation, A.B.; writing—review and editing, S.C.C., V.C.R.; visualization, L.F.J., D.A.S., J.N.L., J.H.P., F.I.O.J., T.N.L.S., M.B.M., D.B.; supervision, V.C.R.; project administration, A.B., L.F.J., V.C.R.; funding acquisition, D.A.S., J.N.L., M.B.M., D.B.. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Brazilian Tuberculosis Control Program and by the President’s Emergency Plan for AIDS Relief (PEPFAR) through the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) under the terms of Cooperative Agreement Number NU2GGH001152. V.C.R. is a senior scientist from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the National Research Ethics Committee (CAAE number 439.001) and by local Institutional Review Boards from each site.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Determine TB LAM, CD4 PIMA Analyser and cartridges prices were obtained with Abbott laboratories representative in Brazil. Original data are available in our previous article (BENJAMIN et al., 2019).

Acknowledgments: The authors thank all patients, the administrative, clinical, and laboratorial staff that contributed, somehow, for this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

ALBERT, H. et al. Development, roll-out and impact of Xpert MTB/RIF for tuberculosis: what lessons have we learnt and how can we do better? **European Respiratory Journal**, v. 48, n. 2, p. 516–525, 1 ago. 2016.

BALCHA, T. T. et al. Detection of lipoarabinomannan in urine for identification of active tuberculosis among HIV-positive adults in Ethiopian health centres. **Tropical Medicine & International Health**, v. 19, n. 6, p. 734–742, jun. 2014a.

BALCHA, T. T. et al. Detection of lipoarabinomannan in urine for identification of active tuberculosis among HIV-positive adults in Ethiopian health centres. **Tropical medicine & international health: TM & IH**, v. 19, n. 6, p. 734–742, jun. 2014b.

BENJAMIN, A. et al. Accuracy of Determine TB-LAM Ag to detect TB in HIV infected patients associated with diagnostic methods used in Brazilian public health units. **PLOS ONE**, v. 14, n. 9, p. e0221038, 24 set. 2019.

BOEHME, C. et al. Detection of mycobacterial lipoarabinomannan with an antigen-capture ELISA in unprocessed urine of Tanzanian patients with suspected tuberculosis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 12, p. 893–900, dez. 2005.

BOEHME, C. C. et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. **New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 11, p. 1005–1015, 2010.

BOEHME, C. C. et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. **The lancet**, v. 377, n. 9776, p. 1495–1505, 2011.

BROGER, T. et al. Novel lipoarabinomannan point-of-care tuberculosis test for people with HIV: a diagnostic accuracy study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 8, p. 852–861, ago. 2019.

BROGER, T. et al. Diagnostic accuracy of 3 urine lipoarabinomannan tuberculosis assays in HIV-negative outpatients. **Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 11, p. 5756–5764, 28 set. 2020a.

BROGER, T. et al. **Diagnostic accuracy of 3 urine lipoarabinomannan tuberculosis assays in HIV-negative outpatients.** Disponível em: <<https://www.jci.org/articles/view/140461/pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2021b.

CHAN, J. et al. Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of Mycobacterium tuberculosis within macrophages. **Infection and immunity**, v. 59, n. 5, p. 1755–1761, 1991.

CHOUDHARY, A. et al. Characterization of the Antigenic Heterogeneity of Lipoarabinomannan, the Major Surface Glycolipid of Mycobacterium tuberculosis, and Complexity of Antibody Specificities toward This Antigen. **The Journal of Immunology Author Choice**, v. 200, n. 9, p. 3053–3066, 1 maio 2018.

CLINTON HEALTH ACCESS INITIATIVE. **HIV Market Report**. [s.l: s.n.].

COMSTOCK, G. W.; LIVESAY, V. T.; WOOLPERT, S. F. The Prognosis of a Positive Tuberculin Reaction in Childhood and Adolescence. **American Journal of Epidemiology**, v. 99, n. 2, p. 131–138, 2 jan. 1974.

CONESA-BOTELLA, A. et al. Urinary Lipoarabinomannan as Predictor for the Tuberculosis Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 58, n. 5, p. 463–468, 15 dez. 2011.

CORBETT, E. L. et al. The Growing Burden of Tuberculosis: **Global Trends and Interactions With the HIV Epidemic**. **Archives of Internal Medicine**, v. 163, n. 9, p. 1009, 12 maio 2003.

COX, J. A. et al. Is Urinary Lipoarabinomannan the Result of Renal Tuberculosis? Assessment of the Renal Histology in an Autopsy Cohort of Ugandan HIV-Infected Adults. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0123323, 21 abr. 2015.

CRESWELL, J. et al. Results from early programmatic implementation of Xpert MTB/RIF testing in nine countries. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 2, 2 jan. 2014.

DE COCK, K. The new tuberculosis. **Africa Health**, v. 16, n. 3, p. 8–10, mar. 1994.

DORMAN, S. E. et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 76–84, jan. 2018.

DRAIN, P. K. et al. Clinic-Based Urinary Lipoarabinomannan as a Biomarker of Clinical Disease Severity and Mortality Among Antiretroviral Therapy-Naive Human Immunodeficiency Virus-Infected Adults in South Africa. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 4, n. 3, 14 ago. 2017.

ELLIOTT, A. M. et al. Negative sputum smear results in HIV-positive patients with pulmonary tuberculosis in Lusaka, Zambia. **Tubercle and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 74, n. 3, p. 191–194, jun. 1993.

FERREIRA MEDEIROS, M. et al. An Attempt to Improve Pure Neural Leprosy Diagnosis Using Immunohistochemistry Tests in Peripheral Nerve Biopsy Specimens: **Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology**, v. 22, n. 3, p. 222–230, mar. 2014.

FLORES, L. L. et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Antigen Detection Tests for the Diagnosis of Tuberculosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 10, p. 1616–1627, 1 out. 2011.

GUPTA-WRIGHT, A. et al. Detection of lipoarabinomannan (LAM) in urine is an independent predictor of mortality risk in patients receiving treatment for HIV-associated tuberculosis in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. **BMC Medicine**, v. 14, n. 1, dez. 2016.

GUPTA-WRIGHT, A. et al. Rapid urine-based screening for tuberculosis in HIV-positive patients admitted to hospital in Africa (STAMP): a pragmatic, multicentre, parallel-group, double-blind, randomised controlled trial. **The Lancet**, v. 392, n. 10144, p. 292–301, 2018.

HAKIM, J. et al. Enhanced Prophylaxis plus Antiretroviral Therapy for Advanced HIV Infection in Africa. **The New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 3, p. 233–245, 20 jul. 2017.

HELB, D. et al. Rapid Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampin Resistance by Use of On-Demand, Near-Patient Technology. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 229–237, jan. 2010.

HUNT, J. Detection of a genetic locus encoding resistance to rifampin in mycobacterial cultures and in clinical specimens. v. 18, n. 4, p. 219–27, abr. 1994.

HUNTER, S. W.; GAYLORD, H.; BRENNAN, P. J. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 26, p. 12345–12351, 15 set. 1986.

JOHNSON, J. L. et al. Impact of human immunodeficiency virus type-1 infection on the initial bacteriologic and radiographic manifestations of pulmonary tuberculosis in Uganda. Makerere University-Case Western Reserve University Research Collaboration. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 2, n. 5, p. 397–404, maio 1998a.

JOHNSON, J. L. et al. Impact of human immunodeficiency virus type-1 infection on the initial bacteriologic and radiographic manifestations of pulmonary tuberculosis in Uganda. Makerere University-Case Western Reserve University Research Collaboration. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 2, n. 5, p. 397–404, maio 1998b.

KERKHOFF, A. D. et al. Diagnostic sensitivity of SILVAMP TB-LAM (FujiLAM) point-of-care urine assay for extra-pulmonary tuberculosis in people living with HIV. **European Respiratory Journal**, v. 55, n. 2, p. 1901259, fev. 2020.

LAWN, S. D. et al. Urine lipoarabinomannan assay for tuberculosis screening before antiretroviral therapy diagnostic yield and association with immune reconstitution disease. **AIDS (London, England)**, v. 23, n. 14, p. 1875–1880, 10 set. 2009.

LAWN, S. D. et al. Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study. **The Lancet infectious diseases**, v. 12, n. 3, p. 201–209, 2012a.

LAWN, S. D. et al. Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 201–209, mar. 2012b.

LAWN, S. D. et al. Advances in tuberculosis diagnostics: the Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test. **The Lancet infectious diseases**, v. 13, n. 4, p. 349–361, 2013.

LAWN, S. D.; GUPTA-WRIGHT, A. Detection of lipoarabinomannan (LAM) in urine is indicative of disseminated TB with renal involvement in patients living with HIV and advanced immunodeficiency: evidence and implications. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 110, n. 3, p. 180–185, mar. 2016.

LEVY, H. et al. A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Chest**, v. 95, n. 6, p. 1193–1197, jun. 1989.

LIPSKY, B. A. et al. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 6, n. 2, p. 214–222, abr. 1984.

MCNERNEY, R.; DALEY, P. Towards a point-of-care test for active tuberculosis: obstacles and opportunities. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 204–213, mar. 2011.

MINION, J. et al. Diagnosing tuberculosis with urine lipoarabinomannan: systematic review and meta-analysis. **European Respiratory Journal**, v. 38, n. 6, p. 1398–1405, 1 dez. 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Brasília/DF: Ministério da Saúde : Secretaria de Vigilância em Saúde : Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico Especial Tuberculose**. [s.l.] Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Recomendações sobre o diagnóstico da tuberculose por meio do teste rápido molecular para tuberculose**. [s.l.] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico. Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose**. [s.l.: s.n.].

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Rede de Teste Rápido para Tuberculose no Brasil : primeiro ano da implantação**. [s.l.] Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 2015b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. p. 366, 2019a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, S. DE V. EM S. OFÍCIO CIRCULAR Nº 7/2019/CGDR.DCCI/SVS/MS. Atualização das recomendações sobre o diagnóstico laboratorial da tuberculose. . 31 out. 2019 b.

MURRAY, J. F. Pulmonary complications of HIV-1 infection among adults living in sub-Saharan Africa [State of the Art Series. HIV infection in low-income, high-burden settings, Edited by JF Murray. Number 4 in the series]. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 9, n. 8, p. 826–835, 2005.

NAHAS, A. A. et al. Anti-Lipoarabinomannan-Specific Salivary IgA as Prognostic Marker for Leprosy Reactions in Patients and Cellular Immunity in Contacts. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 30 maio 2018.

NAKIYINGI, L. et al. Predictors and outcomes of mycobacteremia among HIV-infected smear-negative presumptive tuberculosis patients in Uganda. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, p. 62, 15 fev. 2015.

N'DHATZ, M. et al. [Aspects of thoracic radiography of patients with tuberculosis and HIV infection in Ivory Coast]. **Revue De Pneumologie Clinique**, v. 50, n. 6, p. 317–322, 1994.

NKEREUWEM, E. et al. Comparing accuracy of lipoarabinomannan urine tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis in children from four African countries: a cross-sectional study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 3, p. 376–384, 1 mar. 2021.

Novel lipoarabinomannan point-of-care tuberculosis test for people with HIV: a diagnostic accuracy study - The Lancet Infectious Diseases. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(19\)30001-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(19)30001-5/fulltext)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

PERKINS, M. D.; CUNNINGHAM, J. Facing the Crisis: Improving the Diagnosis of Tuberculosis in the HIV Era. **Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. Supplement 1, p. S15–S27, 15 ago. 2007.

PETER, J. et al. Test characteristics and potential impact of the urine LAM lateral flow assay in HIV-infected outpatients under investigation for TB and able to self-expectorate sputum for diagnostic testing. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, dez. 2015.

PETER, J. G. et al. Diagnostic accuracy of a urine lipoarabinomannan strip-test for TB detection in HIV-infected hospitalised patients. **The European Respiratory Journal**, v. 40, n. 5, p. 1211–1220, nov. 2012a.

PETER, J. G. et al. Diagnostic accuracy of a urine lipoarabinomannan strip-test for TB detection in HIV-infected hospitalised patients. **European Respiratory Journal**, v. 40, n. 5, p. 1211–1220, nov. 2012b.

PETER, J. G. et al. Effect on mortality of point-of-care, urine-based lipoarabinomannan testing to guide tuberculosis treatment initiation in HIV-positive hospital inpatients: a pragmatic, parallel-group, multicountry, open-label, randomised controlled trial. **Lancet (London, England)**, v. 387, n. 10024, p. 1187–1197, 19 mar. 2016.

PIATEK, A. S. et al. Molecular beacon sequence analysis for detecting drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Biotechnology**, v. 16, n. 4, p. 359–363, abr. 1998.

PIATEK, A. S. et al. Genotypic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in two distinct populations using molecular beacons: implications for rapid susceptibility testing. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 44, n. 1, p. 103–110, 2000.

QVIST, T. et al. Urine lipoarabinomannan point-of-care testing in patients affected by pulmonary nontuberculous mycobacteria—experiences from the Danish Cystic Fibrosis cohort study. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 1, 2014.

RAIZADA, N. et al. Feasibility of Decentralised Deployment of Xpert MTB/RIF Test at Lower Level of Health System in India. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e89301, 26 fev. 2014.

RAJA, S. Technology for Automated, Rapid, and Quantitative PCR or Reverse Transcription-PCR Clinical Testing. **Clinical Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 882–890, 1 maio 2005.

Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational „How-to“; practical considerations. [s.l: s.n.].

SARACENI, V. et al. Tuberculosis as primary cause of death among AIDS cases in Rio de Janeiro, Brazil. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 12, n. 7, p. 769–772, 2008.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico Especial.** [s.l: s.n.].

SHAH, M. et al. Diagnostic Accuracy of a Urine Lipoarabinomannan Test for Tuberculosis in Hospitalized Patients in a High HIV Prevalence Setting: **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 52, n. 2, p. 145–151, out. 2009a.

SHAH, M. et al. Diagnostic accuracy of a urine lipoarabinomannan test for tuberculosis in hospitalized patients in a High HIV prevalence setting. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 52, n. 2, p. 145–151, 1 out. 2009b.

SHAH, M. et al. Quantitative Analysis of a Urine-Based Assay for Detection of Lipoarabinomannan in Patients with Tuberculosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 2972–2974, 1 ago. 2010.

SHARMA, S. K. et al. Miliary tuberculosis: new insights into an old disease. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 5, n. 7, p. 415–430, jul. 2005.

Sigal et al. - 2018 - A Novel Sensitive Immunoassay Targeting the 5-Meth.pdf. , [s.d.].

SIGAL, G. B. et al. A Novel Sensitive Immunoassay Targeting the 5-Methylthio- D - Xylofuranose–Lipoarabinomannan Epitope Meets the WHO’s Performance Target for Tuberculosis Diagnosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 12, dez. 2018.

SILVA, T. B. C.; BORGES, S. S.; ANDREOLI, G. L. M. COORDENAÇÃO DE MONITORAMENTO E AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE – CMATS/CGGTS/DGITIS/SCTIE/MS. p. 63, [s.d.].

VYNNYCKY, E.; FINE, P. E. M. The natural history of tuberculosis: the implications of age-dependent risks of disease and the role of reinfection. **Epidemiology and infection**, v. 119, n. 02, p. 183–201, 1997.

WOOD, R. et al. Lipoarabinomannan in urine during tuberculosis treatment: association with host and pathogen factors and mycobacteriuria. **BMC Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 47, dez. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational, How-to“; practical considerations.** Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The End TB Strategy - Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015.** Geneva, Switzerland: [s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2016.** [s.l: s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2018**. Geneva, Switzerland: [s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis of active tuberculosis in people living with HIV. Policy guidance**. Geneva, Switzerland: [s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2020**. Geneva: World Health Organization, 2020a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Point-of-care CD4 tests to support the identification of individuals with advanced HIV disease**. [s.l: s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION, P. **The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV. Policy guidance**. Geneva, Switzerland: [s.n.].

4 CONCLUSÃO

4.1 ARTIGO 1

Este foi o primeiro estudo com LAM realizado no Brasil usando o algoritmo nacional em centros clínicos que são também, referência para o tratamento de HIV. Demonstramos que esse teste rápido, quando usado em combinação com um exame de baciloscopia de escarro alcança sensibilidade similar a do Xpert em pacientes com TB e imunossuprimidos por HIV.

4.2 ARTIGO 2

O LAM é um teste barato, simples e reprodutível e pode ser uma ferramenta para diagnóstico de TB, adicional ao julgamento clínico, em combinação com a baciloscopia, para PVHIV em países de baixa renda, onde o Xpert não está amplamente disponível. A contagem de CD4, através do CD4 PIMA, mais cara e com muitos problemas técnicos, seria dispensável em um cenário como este.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES

O diagnóstico de TB ainda é, atualmente, um desafio para muitos países de média e baixa renda, especialmente em PVHIV. Apesar do advento do Xpert ter representado um divisor de águas nesse campo, a maioria dos países com alta carga da doença ainda não consegue realizar a metade dos diagnósticos através de testes rápidos. No Brasil, esse percentual foi de 34% em 2019. Portanto, ainda é necessário um grande esforço das autoridades em saúde para que a epidemia de TB seja contida. Outros testes rápidos são importantes, especialmente aqueles que podem ser realizados ao lado do paciente e fornecer um resultado em poucos minutos sem necessidade de infraestrutura laboratorial, transporte de amostras entre diferentes locais, biossegurança e local especial para coleta ou um sistema informatizado. O LAM, assim como o recente Fujifilm SILVAMP TB LAM P poderiam vir a preencher essa lacuna.

A Coordenação de Monitoramento e Avaliação de Tecnologias em Saúde do Ministério da Saúde do Brasil avaliou o LAM e publicou um documento em novembro de 2020 (SILVA; BORGES; ANDREOLI, 2020). Nosso trabalho foi o único realizado na população brasileira, contribuindo com dados para essa recomendação. Segundo tal relatório, esse teste foi mais custo-efetivo em comparação ao Xpert e deve ser empregado na rede de atendimento de PVHIV, como nós sugerimos. O teste não substituirá nenhuma tecnologia atualmente em uso no Sistema Único de Saúde, sendo mais uma ferramenta para o diagnóstico de TB em PVHIV com imunodeficiência avançada.

Sendo essa tecnologia implementada pelo Ministério da Saúde, poderemos realizar estudos de Vida Real (*Real World Data*) posteriormente, coletando dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação para conhecer o real desempenho do LAM no diagnóstico de TB em PVHIV e na redução da mortalidade nessa população.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERT, H. et al. Development, roll-out and impact of Xpert MTB/RIF for tuberculosis: what lessons have we learnt and how can we do better? **European Respiratory Journal**, v. 48, n. 2, p. 516–525, 1 ago. 2016.

BALCHA, T. T. et al. Detection of lipoarabinomannan in urine for identification of active tuberculosis among HIV-positive adults in Ethiopian health centres. **Tropical Medicine & International Health**, v. 19, n. 6, p. 734–742, jun. 2014a.

BALCHA, T. T. et al. Detection of lipoarabinomannan in urine for identification of active tuberculosis among HIV-positive adults in Ethiopian health centres. **Tropical medicine & international health: TM & IH**, v. 19, n. 6, p. 734–742, jun. 2014b.

BENJAMIN, A. et al. Accuracy of Determine TB-LAM Ag to detect TB in HIV infected patients associated with diagnostic methods used in Brazilian public health units. **PLOS ONE**, v. 14, n. 9, p. e0221038, 24 set. 2019.

BOEHME, C. et al. Detection of mycobacterial lipoarabinomannan with an antigen-capture ELISA in unprocessed urine of Tanzanian patients with suspected tuberculosis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 12, p. 893–900, dez. 2005.

BOEHME, C. C. et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. **New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 11, p. 1005–1015, 2010.

BOEHME, C. C. et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. **The lancet**, v. 377, n. 9776, p. 1495–1505, 2011.

BROGER, T. et al. Novel lipoarabinomannan point-of-care tuberculosis test for people with HIV: a diagnostic accuracy study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 8, p. 852–861, ago. 2019.

BROGER, T. et al. Diagnostic accuracy of 3 urine lipoarabinomannan tuberculosis assays in HIV-negative outpatients. **Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 11, p. 5756–5764, 28 set. 2020a.

BROGER, T. et al. **Diagnostic accuracy of 3 urine lipoarabinomannan tuberculosis assays in HIV-negative outpatients**. Disponível em: <<https://www.jci.org/articles/view/140461/pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2021b.

CHAN, J. et al. Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of Mycobacterium tuberculosis within macrophages. **Infection and immunity**, v. 59, n. 5, p. 1755–1761, 1991.

CHOUDHARY, A. et al. Characterization of the Antigenic Heterogeneity of Lipoarabinomannan, the Major Surface Glycolipid of Mycobacterium tuberculosis, and

Complexity of Antibody Specificities toward This Antigen. **The Journal of Immunology Author Choice**, v. 200, n. 9, p. 3053–3066, 1 maio 2018.

CLINTON HEALTH ACCESS INITIATIVE. **HIV Market Report**. [s.l.: s.n.].

COMSTOCK, G. W.; LIVESAY, V. T.; WOOLPERT, S. F. The Prognosis of a Positive Tuberculin Reaction in Childhood and Adolescence. **American Journal of Epidemiology**, v. 99, n. 2, p. 131–138, 2 jan. 1974.

CONESA-BOTELLA, A. et al. Urinary Lipoarabinomannan as Predictor for the Tuberculosis Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 58, n. 5, p. 463–468, 15 dez. 2011.

CORBETT, E. L. et al. The Growing Burden of Tuberculosis: **Global Trends and Interactions With the HIV Epidemic**. **Archives of Internal Medicine**, v. 163, n. 9, p. 1009, 12 maio 2003.

COX, J. A. et al. Is Urinary Lipoarabinomannan the Result of Renal Tuberculosis? Assessment of the Renal Histology in an Autopsy Cohort of Ugandan HIV-Infected Adults. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0123323, 21 abr. 2015.

CRESWELL, J. et al. Results from early programmatic implementation of Xpert MTB/RIF testing in nine countries. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 2, 2 jan. 2014.

DE COCK, K. The new tuberculosis. **Africa Health**, v. 16, n. 3, p. 8–10, mar. 1994.

DORMAN, S. E. et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 76–84, jan. 2018.

DRAIN, P. K. et al. Clinic-Based Urinary Lipoarabinomannan as a Biomarker of Clinical Disease Severity and Mortality Among Antiretroviral Therapy-Naive Human Immunodeficiency Virus-Infected Adults in South Africa. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 4, n. 3, 14 ago. 2017.

ELLIOTT, A. M. et al. Negative sputum smear results in HIV-positive patients with pulmonary tuberculosis in Lusaka, Zambia. **Tubercle and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 74, n. 3, p. 191–194, jun. 1993.

FERREIRA MEDEIROS, M. et al. An Attempt to Improve Pure Neural Leprosy Diagnosis Using Immunohistochemistry Tests in Peripheral Nerve Biopsy Specimens: **Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology**, v. 22, n. 3, p. 222–230, mar. 2014.

FLORES, L. L. et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Antigen Detection Tests for the Diagnosis of Tuberculosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 10, p. 1616–1627, 1 out. 2011.

GUPTA-WRIGHT, A. et al. Detection of lipoarabinomannan (LAM) in urine is an independent predictor of mortality risk in patients receiving treatment for HIV-

associated tuberculosis in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. **BMC Medicine**, v. 14, n. 1, dez. 2016.

GUPTA-WRIGHT, A. et al. Rapid urine-based screening for tuberculosis in HIV-positive patients admitted to hospital in Africa (STAMP): a pragmatic, multicentre, parallel-group, double-blind, randomised controlled trial. **The Lancet**, v. 392, n. 10144, p. 292–301, 2018.

HAKIM, J. et al. Enhanced Prophylaxis plus Antiretroviral Therapy for Advanced HIV Infection in Africa. **The New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 3, p. 233–245, 20 jul. 2017.

HELB, D. et al. Rapid Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampin Resistance by Use of On-Demand, Near-Patient Technology. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 229–237, jan. 2010.

HUNT, J. Detection of a genetic locus encoding resistance to rifampin in mycobacterial cultures and in clinical specimens. v. 18, n. 4, p. 219–27, abr. 1994.

HUNTER, S. W.; GAYLORD, H.; BRENNAN, P. J. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 26, p. 12345–12351, 15 set. 1986.

JOHNSON, J. L. et al. Impact of human immunodeficiency virus type-1 infection on the initial bacteriologic and radiographic manifestations of pulmonary tuberculosis in Uganda. Makerere University-Case Western Reserve University Research Collaboration. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 2, n. 5, p. 397–404, maio 1998a.

JOHNSON, J. L. et al. Impact of human immunodeficiency virus type-1 infection on the initial bacteriologic and radiographic manifestations of pulmonary tuberculosis in Uganda. Makerere University-Case Western Reserve University Research Collaboration. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 2, n. 5, p. 397–404, maio 1998b.

KERKHOFF, A. D. et al. Diagnostic sensitivity of SILVAMP TB-LAM (FujiLAM) point-of-care urine assay for extra-pulmonary tuberculosis in people living with HIV. **European Respiratory Journal**, v. 55, n. 2, p. 1901259, fev. 2020.

LAWN, S. D. et al. Urine lipoarabinomannan assay for tuberculosis screening before antiretroviral therapy diagnostic yield and association with immune reconstitution disease. **AIDS (London, England)**, v. 23, n. 14, p. 1875–1880, 10 set. 2009.

LAWN, S. D. et al. Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study. **The Lancet infectious diseases**, v. 12, n. 3, p. 201–209, 2012a.

LAWN, S. D. et al. Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral

therapy: a descriptive study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 201–209, mar. 2012b.

LAWN, S. D. et al. Advances in tuberculosis diagnostics: the Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test. **The Lancet infectious diseases**, v. 13, n. 4, p. 349–361, 2013.

LAWN, S. D.; GUPTA-WRIGHT, A. Detection of lipoarabinomannan (LAM) in urine is indicative of disseminated TB with renal involvement in patients living with HIV and advanced immunodeficiency: evidence and implications. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 110, n. 3, p. 180–185, mar. 2016.

LEVY, H. et al. A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Chest**, v. 95, n. 6, p. 1193–1197, jun. 1989.

LIPSKY, B. A. et al. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 6, n. 2, p. 214–222, abr. 1984.

MCNERNEY, R.; DALEY, P. Towards a point-of-care test for active tuberculosis: obstacles and opportunities. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 204–213, mar. 2011.

MINION, J. et al. Diagnosing tuberculosis with urine lipoarabinomannan: systematic review and meta-analysis. **European Respiratory Journal**, v. 38, n. 6, p. 1398–1405, 1 dez. 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Brasília/DF: Ministério da Saúde : Secretaria de Vigilância em Saúde : Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico Especial Tuberculose**. [s.l.] Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Recomendações sobre o diagnóstico da tuberculose por meio do teste rápido molecular para tuberculose**. [s.l.] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico. Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose**. [s.l.: s.n.].

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Rede de Teste Rápido para Tuberculose no Brasil: primeiro ano da implantação**. [s.l.] Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 2015b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. p. 366, 2019a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, S. DE V. EM S. OFÍCIO CIRCULAR Nº 7/2019/CGDR/.DCCI/SVS/MS. Atualização das recomendações sobre o diagnóstico laboratorial da tuberculose. . 31 out. 2019 b.

MURRAY, J. F. Pulmonary complications of HIV-1 infection among adults living in sub-Saharan Africa [State of the Art Series. HIV infection in low-income, high-burden settings, Edited by JF Murray. Number 4 in the series]. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 9, n. 8, p. 826–835, 2005.

NAHAS, A. A. et al. Anti-Lipoarabinomannan-Specific Salivary IgA as Prognostic Marker for Leprosy Reactions in Patients and Cellular Immunity in Contacts. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 30 maio 2018.

NAKIYINGI, L. et al. Predictors and outcomes of mycobacteremia among HIV-infected smear- negative presumptive tuberculosis patients in Uganda. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, p. 62, 15 fev. 2015.

N'DHATZ, M. et al. [Aspects of thoracic radiography of patients with tuberculosis and HIV infection in Ivory Coast]. **Revue De Pneumologie Clinique**, v. 50, n. 6, p. 317–322, 1994.

NKEREUWEM, E. et al. Comparing accuracy of lipoarabinomannan urine tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis in children from four African countries: a cross-sectional study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 3, p. 376–384, 1 mar. 2021.

Novel lipoarabinomannan point-of-care tuberculosis test for people with HIV: a diagnostic accuracy study - The Lancet Infectious Diseases. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(19\)30001-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(19)30001-5/fulltext)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

PERKINS, M. D.; CUNNINGHAM, J. Facing the Crisis: Improving the Diagnosis of Tuberculosis in the HIV Era. **Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. Supplement 1, p. S15–S27, 15 ago. 2007.

PETER, J. et al. Test characteristics and potential impact of the urine LAM lateral flow assay in HIV-infected outpatients under investigation for TB and able to self-expectorate sputum for diagnostic testing. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, dez. 2015.

PETER, J. G. et al. Diagnostic accuracy of a urine lipoarabinomannan strip-test for TB detection in HIV-infected hospitalised patients. **The European Respiratory Journal**, v. 40, n. 5, p. 1211–1220, nov. 2012a.

PETER, J. G. et al. Diagnostic accuracy of a urine lipoarabinomannan strip-test for TB detection in HIV-infected hospitalised patients. **European Respiratory Journal**, v. 40, n. 5, p. 1211–1220, nov. 2012b.

PETER, J. G. et al. Effect on mortality of point-of-care, urine-based lipoarabinomannan testing to guide tuberculosis treatment initiation in HIV-positive hospital inpatients: a pragmatic, parallel-group, multicountry, open-label, randomised controlled trial. **Lancet (London, England)**, v. 387, n. 10024, p. 1187–1197, 19 mar. 2016.

PIATEK, A. S. et al. Molecular beacon sequence analysis for detecting drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Biotechnology**, v. 16, n. 4, p. 359–363, abr. 1998.

PIATEK, A. S. et al. Genotypic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in two distinct populations using molecular beacons: implications for rapid susceptibility testing. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 44, n. 1, p. 103–110, 2000.

QVIST, T. et al. Urine lipoarabinomannan point-of-care testing in patients affected by pulmonary nontuberculous mycobacteria—experiences from the Danish Cystic Fibrosis cohort study. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 1, 2014.

RAIZADA, N. et al. Feasibility of Decentralised Deployment of Xpert MTB/RIF Test at Lower Level of Health System in India. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e89301, 26 fev. 2014.

RAJA, S. Technology for Automated, Rapid, and Quantitative PCR or Reverse Transcription-PCR Clinical Testing. **Clinical Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 882–890, 1 maio 2005.

Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational „How-to“; practical considerations. [s.l: s.n.].

SARACENI, V. et al. Tuberculosis as primary cause of death among AIDS cases in Rio de Janeiro, Brazil. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 12, n. 7, p. 769–772, 2008.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico Especial.** [s.l: s.n.].

SHAH, M. et al. Diagnostic Accuracy of a Urine Lipoarabinomannan Test for Tuberculosis in Hospitalized Patients in a High HIV Prevalence Setting: **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 52, n. 2, p. 145–151, out. 2009a.

SHAH, M. et al. Diagnostic accuracy of a urine lipoarabinomannan test for tuberculosis in hospitalized patients in a High HIV prevalence setting. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 52, n. 2, p. 145–151, 1 out. 2009b.

SHAH, M. et al. Quantitative Analysis of a Urine-Based Assay for Detection of Lipoarabinomannan in Patients with Tuberculosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 2972–2974, 1 ago. 2010.

SHARMA, S. K. et al. Miliary tuberculosis: new insights into an old disease. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 5, n. 7, p. 415–430, jul. 2005.

Sigal et al. - 2018 - A Novel Sensitive Immunoassay Targeting the 5-Meth.pdf. , [s.d.].

SIGAL, G. B. et al. A Novel Sensitive Immunoassay Targeting the 5-Methylthio- D - Xylofuranose–Lipoarabinomannan Epitope Meets the WHO’s Performance Target for Tuberculosis Diagnosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 12, dez. 2018.

SILVA, T. B. C.; BORGES, S. S.; ANDREOLI, G. L. M. COORDENAÇÃO DE MONITORAMENTO E AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE – CMATS/CGGTS/DGITIS/SCTIE/MS. p. 63, [s.d.].

VYNNYCKY, E.; FINE, P. E. M. The natural history of tuberculosis: the implications of age-dependent risks of disease and the role of reinfection. **Epidemiology and Infection**, v. 119, n. 02, p. 183–201, 1997.

WOOD, R. et al. Lipoarabinomannan in urine during tuberculosis treatment: association with host and pathogen factors and mycobacteriuria. **BMC Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 47, dez. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational, How-to”; practical considerations**. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The End TB Strategy - Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015**. Geneva, Switzerland: [s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2016**. [s.l: s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2018**. Geneva, Switzerland: [s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis of active tuberculosis in people living with HIV. Policy guidance**. Geneva, Switzerland: [s.n.].

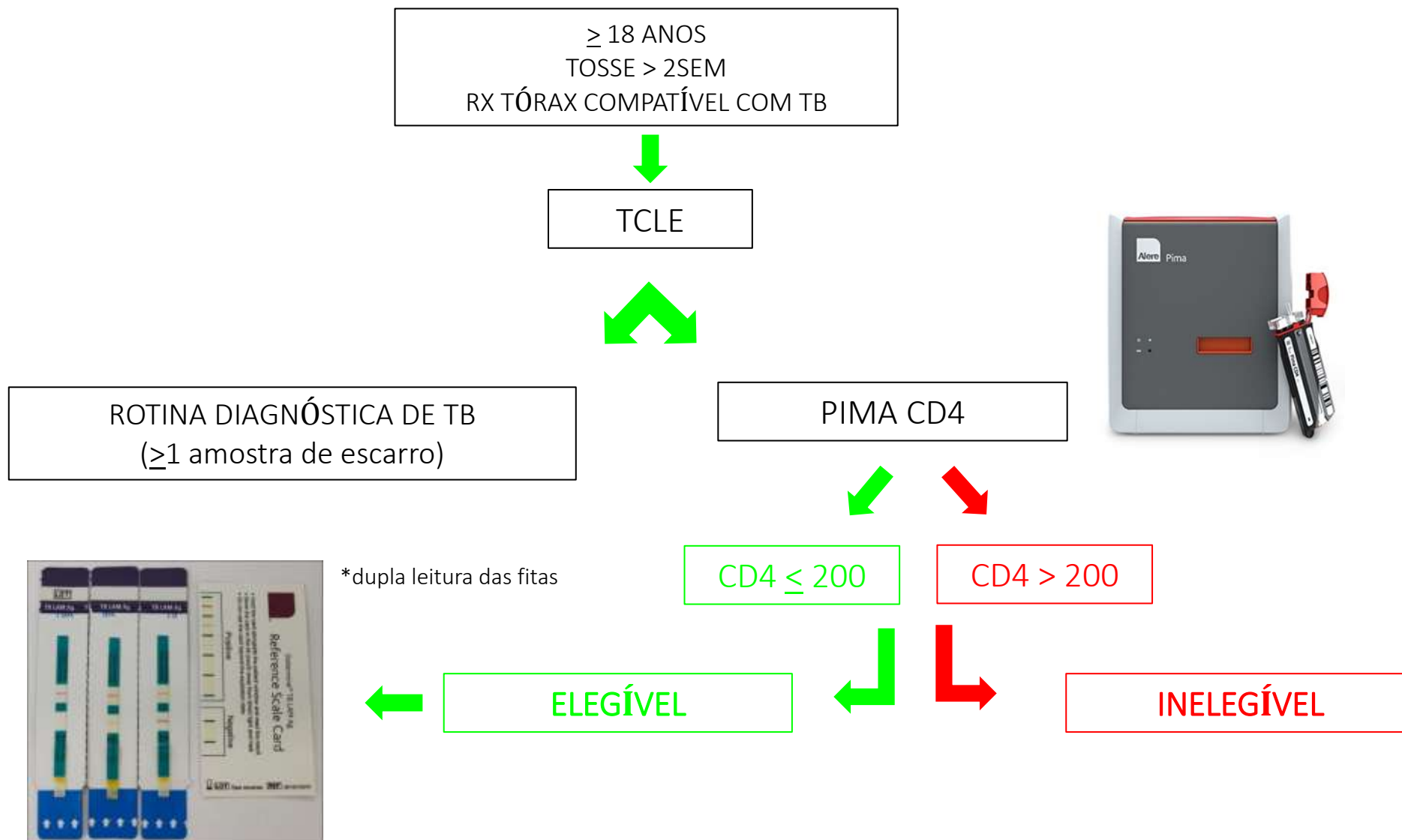
WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2020**. Geneva: World Health Organization, 2020a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Point-of-care CD4 tests to support the identification of individuals with advanced HIV disease**. [s.l: s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION, P. **The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV. Policy guidance**. Geneva, Switzerland: [s.n.].

7 ANEXOS

ANEXO 1 – FLUXOGRAMA DOS PROCEDIMENTOS DO ESTUDO



ANEXO 2 – TERMO DO CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

LAM associado à baciloscopia para detecção precoce de casos de tuberculose na rotina clínica de pacientes com tuberculose associada ao HIV e imunodeficiência avançada.

Pesquisadores envolvidos: Valeria Rolla, Leda Jamal, Draurio Barreira, Denise Arakaki Sanchez, Josué Nazareno Lima, José Henrique Pilotto, Francisco Ivanildo de Oliveira Junior, Tâmara Newman Lobato Souza, Celia Landmann Szwarcwald, Pedro Brasil, Aline Benjamin

O (a) Sr (a) está sendo convidado (a) a participar de um estudo sobre a tuberculose. Esta doença é causada por uma micobactéria chamada *Mycobacterium tuberculosis* que costuma causar doença nos pulmões, mas pode também acometer qualquer parte do corpo causando meningite, infecção óssea, “caroços no corpo”, doença nos rins etc. O (a) Sr (a) está sendo convidado a participar desse estudo porque pessoas soropositivas para o HIV e com imunidade baixa têm um risco aumentado de desenvolver tuberculose. Este estudo visa tornar mais fácil e mais rápida a maneira de diagnosticar a tuberculose utilizando, além do escarro, a urina como parte da investigação. Este exame novo se chama Determine® TB LAM Ag e permite detectar a presença desta micobactéria na sua urina em 30 minutos. As pesquisas já realizadas mostram que esse teste detecta melhor “pedacinhos” das micobactérias na urina quando a pessoa está infectada pelo HIV. Além disso, ele apresenta resultados ainda melhores quando a imunidade da pessoa está comprometida, isto é, com contagens de células T CD4 igual ou menor que 200 cel/mm³. Em pessoas com contagens muito baixas (abaixo de 50 cel/ mm³) o teste funciona ainda melhor, principalmente se o exame do escarro (baciloscopia) for feito também para olhar os dois resultados juntos. Esse teste foi usado em outros países para pessoas que receberam o diagnóstico de HIV/AIDS e alguns casos de tuberculose foram diagnosticados nessas pessoas. O que os pesquisadores desse estudo desejam saber é se esse teste é bom para usarmos nos ambulatórios e se vale a pena usá-lo no SUS, isto é, usá-lo na rotina dos serviços do Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro.

Ao aceitar participar do estudo o (a) Sr (a) vai permitir que o exame de baciloscopia e cultura sejam realizados no seu escarro ou outro material do seu corpo (estes exames já são feitos na rotina de investigação da tuberculose) e também que o Determine® TB LAM Ag seja feito na sua urina. Além disso, faremos também a contagem de suas células T CD4 usando um teste rápido para sabermos se seu sistema de defesa está comprometido. Para isto será necessário que o (a) Sr (a) entenda as explicações que estão sendo dadas e assine esse termo de consentimento caso concorde em participar do estudo. Caso a tuberculose seja diagnosticada, o (a) Sr (a) também deverá responder a perguntas sobre a sua saúde além de realizar o tratamento. Os medicamentos devem ser tomados diariamente por seis meses, no mínimo, sem interrupções de acordo com a prescrição médica para que o tratamento resulte na cura. Este tratamento será feito de acordo com o Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil (Ministério da Saúde) e é fornecido gratuitamente pelo governo.

Procedimentos do estudo

Após leitura do TCLE, esclarecimento de todas as dúvidas sobre os procedimentos do estudo e assinatura pelo (a) Sr (a) e o pesquisador, será coletada uma amostra de urina para a realização do teste Determine LAM, além dos exames já utilizados na rede pública pra diagnosticar a tuberculose.

Sua participação nesse estudo será de autorizar a realização do Determine® TB LAM Ag na sua urina, fazer um teste de CD4 rápido, além de responder perguntas sobre a sua saúde durante as consultas de rotina. Caso a tuberculose seja diagnosticada, o (a) Sr (a) deverá também tomar regularmente os medicamentos prescritos durante no mínimo, seis meses, colaborando desta forma para o sucesso do tratamento e cura da tuberculose.

Riscos e benefícios

O Determine® TB LAM Ag será realizado na sua urina (10 ml de urina fresca a ser coletada em um pote apropriado e fornecido pela unidade de saúde para todos os voluntários). A contagem rápida de CD4 será feita através de um “furinho” no seu dedo para exame de sangue. Todos os outros exames que serão realizados fazem parte da rotina de investigação de tuberculose usada por todos os hospitais do SUS e incluem

radiografia de tórax, exame de escarro, coleta de sangue e biópsias (retirada de um pequeno pedacinho da parte do corpo com doença) caso a tuberculose atinja outro local além dos pulmões. Nenhum outro exame será realizado por causa do estudo.

Coletar sangue pode trazer riscos como desmaio, desconforto temporário ou equimoses no local da punção (furada da agulha); mais raramente, pode haver infecção ou formação de um pequeno coágulo ou inchaço na veia e na área ao redor. A coleta da urina poderá ocasionar desconforto, visto que deverá ser realizada nas dependências da instituição de saúde que vai oferecer o teste.

Caso o (a) Sr (a) tenha algum dano relacionado direta ou indiretamente com a sua participação nesse estudo, o (a) Sr (a) receberá suporte do médico responsável no centro onde o (a) Sr (a) está sendo tratado e na falta desse, de outro profissional ligado ao estudo. Caso seu tratamento não seja eficaz ou caso não consiga se adaptar aos remédios utilizados, um novo tratamento lhe será oferecido e garantido, de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde do Brasil. A equipe de saúde do centro está disponível para auxiliá-lo independentemente da sua participação neste estudo. O (a) Sr (a) terá garantia de assistência integral durante este estudo e receberá uma indenização caso sofra quaisquer danos.

O (a) Sr (a) não terá despesas decorrentes da sua participação no estudo. No dia em que for realizar os procedimentos do estudo nos centros credenciados, os valores gastos com transporte e alimentação lhe serão reembolsados. Os resultados obtidos lhe serão informados pessoalmente e considerados confidenciais, podendo, no entanto, serem divulgados na forma de comunicação científica em congressos e revistas, mas não será permitida a sua identificação, o que garante a sua privacidade. Todos os dados obtidos sobre o (a) Sr (a) serão codificados para que o (a) Sr (a) não possa ser identificado e guardados pela equipe em armários apropriados, fechados com chave. Os resultados desse estudo poderão não lhe beneficiar diretamente, mas poderão no futuro beneficiar outras pessoas com esta doença.

O profissional responsável está a sua disposição para responder a todas as perguntas sempre que o (a) Sr (a) tiver novas dúvidas. O (a) Sr (a) tem toda a liberdade de consultar outros investigadores envolvidos na pesquisa quando sentir necessidade. Sua participação é inteiramente voluntária. O (a) Sr (a) pode a qualquer momento desistir de participar sem prejuízo para seu diagnóstico, tratamento e acompanhamento.

Caso o (a) Sr (a) tenha lido e entendido as informações neste termo de consentimento - ou elas tenham sido lidas para o (a) Sr (a) – e caso concorde em participar voluntariamente deste estudo, o (a) Sr (a) e o pesquisador assinarão duas vias deste documento. Uma via lhe será entregue. Ao assinar este documento, o (a) Sr (a) não abrirá mão de nenhum direito legal. Será também necessário que o (a) Sr (a) e o pesquisador rubriquem todas as páginas deste termo, assegurando que todas as páginas foram lidas, o que garante ainda mais a sua proteção.

_____ /_____/_____
Nome do participante (letra legível) Data

Assinatura do participante

_____ /_____/_____
Nome do Pesquisador (letra legível) Data

Assinatura do Pesquisador

_____ /_____/_____
Nome do representante legal (letra legível) Data

Assinatura do representante legal

_____ /_____/_____
Nome da testemunha imparcial (letra legível) Data

Assinatura da testemunha imparcial

Em caso de dúvida você poderá entrar em contato conosco:

Dra. Valeria Cavalcanti Rolla - CRM 52-42859-0

Laboratório de Pesquisa Clínica em Micobacterioses

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) - Fiocruz

Av. Brasil 4365, Manguinhos. CEP 21040-900

Telefone de contato: (21) 3865-9607; celular (21) 9490-4251

Email: valeria.rolla@ipec.fiocruz.br

Comitê de Ética em Pesquisa do IPEC-Fiocruz (colegiado interdisciplinar e independente criado para defender os interesses dos sujeitos de pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos)

Av. Brasil 4365, Manguinhos. CEP 21040-900

Telefone (21) 3865-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

Horário de Funcionamento: 2ª a 6ª de 08 às 17h

ANEXO 3 – PARECER CONSUBSTANCIADO CEP

INSTITUTO DE PESQUISA
CLÍNICA EVANDRO CHAGAS -
IPEC / FIOCRUZ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: LAM associado à baciloscopia para detecção precoce de casos de tuberculose na rotina clínica de pacientes com tuberculose associada ao HIV e imunodeficiência avançada.

Pesquisador: Valéria Cavalcanti Rolla

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.
Área 8. Pesquisa com cooperação estrangeira.

Versão: 4

CAAE: 08498712.1.1001.5262

Instituição Proponente: Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - IPEC / FIOCRUZ

Patrocinador Principal: Centers for Disease Control and Prevention
Secretaria de Vigilância em Saúde ((SVS/MS))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 220.085

Data da Relatoria: 11/03/2013

Apresentação do Projeto:

Protocolo nacional com financiamento estrangeiro (exclusivo) e nacional com execução totalmente no Brasil. O diagnóstico da tuberculose continua a ser um desafio em pacientes com aids e imunodeficiência. Ferramentas novas para diagnóstico rápido principalmente com baixo custo e fáceis de executar são de extremo interesse para otimizar o controle da doença. O desempenho de um novo teste para diagnosticar tuberculose através da urina será avaliado em unidades de atendimento de HIV/aids e TB no Rio de Janeiro e São Paulo. Indivíduos soropositivos para o HIV e sintomas clínicos de aids serão selecionados. Todos os selecionados, sintomáticos respiratórios ou não serão submetidos a uma investigação clínica para diagnóstico de TB. Ao final do estudo, os resultados do LAM serão comparados com baciloscopia e cultura de escarro ou outro material caso haja sinais e sintomas de TB extrapulmonar. Serão avaliadas sensibilidade, especificidade, razões de verossimilhança e valores preditivos. A exploração de características clínicas (como a presença ou não de cavitações pulmonares, carga bacilar na baciloscopia, e contagens de células CD4) em diferentes subgrupos será também realizada como potenciais elementos que modificam o desempenho do teste. O desempenho do teste definirá a utilização deste na rede pública do Brasil.

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.045-900

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

**INSTITUTO DE PESQUISA
CLÍNICA EVANDRO CHAGAS -
IPEC / FIOCRUZ**



Crítérios de inclusão: -Aceitar participar do protocolo e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). **Primeiro cenário:** -Ser soropositivo para o HIV. - CD4 \geq 350 cel/mm³, conforme resultado do PIMA. -Sem uso prévio de TARV. - Com sinais de imunodeficiência, tais como: perda ponderal >10% do peso habitual, candidíase oral, febre ou outros sintomas constitucionais (como diarreia crônica, prurigo) (Consenso Nacional de HIV/aids 2010). **Segundo cenário:** - Ter 18 anos ou mais. -Ser soropositivo para o HIV. -CD4 \geq 350 cel/mm³, conforme resultado do PIMA. -Estar em uso ou não de TARV. -Ter um ou mais sinais e sintomas de TB, de acordo com o Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil, 2011. **Crítérios de exclusão:** -Gestantes. -Não conseguir obter urina para realizar o LAM.-Haver algum impedimento para a realização dos exames diagnósticos da TB no centro de pesquisa. O Determine® TB LAM Ag é o teste em estudo. É um teste imunocromatográfico para a detecção do antígeno LAM, em formato de fita. O teste utiliza anticorpos altamente purificados específicos para o LAM adsorvidos na fita de nitrocelulose. É utilizada uma amostra de 60 microlitros de urina e após 25 a 30 minutos, aparecerá uma banda como observado na figura abaixo, em caso de resultado positivo. O diagnóstico de tuberculose será realizado nas rotinas dos serviços, através da investigação com baciloscopia e cultura, de acordo com as recomendações das diretrizes brasileiras de TB.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo: Avaliar o desempenho diagnóstico e a utilidade clínica do teste Determine® TB LAM Ag para o diagnóstico rápido de Tuberculose, quando realizado como parte da rotina inicial de exames, em unidades de atendimento de pacientes com HIV/ AIDS.

Objetivos Específicos: Comparar o desempenho do teste Determine® TB LAM Ag segundo as categorias:

- 1) Contagem de células CD4 (<50, <100, <200, de 201-350);
- 2) Presença de cavitação na radiografia de tórax;
- 3) Diagnóstico de tuberculose pulmonar e extrapulmonar Carga bacilar +, ++, +++, +++++ ou negativa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: A coleta da urina poderá ocasionar desconforto, visto que deverá ser realizada nas dependências da instituição de saúde que vai oferecer o teste.

Benefícios: Os resultados desse estudo poderão não beneficiar diretamente os participantes, mas poderão no futuro beneficiar outras pessoas com esta doença ao responder o objetivo do estudo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa relevante e de impacto para estudos desta natureza, com cooperação estrangeira, multicêntrico envolvendo no Brasil os centros, além do Instituto de Pesquisa Clínica

Endereço: Avenida Brasil 4365

Barro: Manginhos

CEP: 21.045-900

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

**INSTITUTO DE PESQUISA
CLÍNICA EVANDRO CHAGAS -
IPEC / FIOCRUZ**



Evandro Chagas/FIOCRUZ(RJ), o Hospital Geral de Nova Iguaçu(RJ), o Instituto de Infectologia Emílio Ribas (SP) e o Centro de Referência e Treinamento em DST/AIDS (SP). Será financiado pelo Centers for Disease Control and Prevention/CDC (Acordo de Cooperação #1U2GPS001204) e o Ministério da Saúde, Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: TCLE versão de 20 de dezembro de 2012 modificado para o CEP-IPEC em 28 de janeiro de 2013; Declaração dos Centros Participantes; Declaração dos Resultados da Pesquisa; Declaração sobre Recrutamento de Sujeitos de Pesquisa; Declaração de Cumprimento da Resolução 196/96 do CNS; Declaração sobre Apólice de Seguro; Declaração de Uso das Amostras Biológicas e/ou Dados; Declaração de Infraestrutura e Autorização Institucional; Declaração de Anuência dos Centros Participantes; Orçamento; Carta de Interesse do Programa Nacional de Controle da Tuberculose; Alere Determine TB LAM (Brazilian Portuguese); Alere Determine TM LAM (Bula).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Recomendações:

Foram satisfeitas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram satisfeitas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado, bem como a Coordenação do CEP, tiveram grande dúvida em classificá-lo como Grupo I - Cooperação estrangeira - considerando que o apoio estrangeiro será exclusivamente financeiro, sem qualquer participação na elaboração do projeto, exclusivamente elaborado pela pesquisadora responsável, Dra. Valéria Rolla.

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manginhos

CEP: 21.045-900

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

INSTITUTO DE PESQUISA
CLÍNICA EVANDRO CHAGAS -
IPEC / FIOCRUZ



RIO DE JANEIRO, 15 de Março de 2013

Assinador por:
Léa Ferreira Camillo-Coura
(Coordenador)

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.045-900

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

ANEXO 4 – PARECER CONSUBSTANCIADO CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: LAM associado à baciloscopia para detecção precoce de casos de tuberculose na rotina clínica de pacientes com tuberculose associada ao HIV e imunodeficiência avançada.

Pesquisador: Valéria Cavalcanti Rolla

Área Temática: Pesquisas com coordenação e/ou patrocínio originados fora do Brasil, excetuadas aquelas com copatrocínio do Governo Brasileiro;

Versão: 6

CAAE: 08498712.1.1001.5262

Instituição Proponente: Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - IPEC / FIOCRUZ

Patrocinador Principal: Centers for Disease Control and Prevention
Secretaria de Vigilância em Saúde

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 439.001

Data da Relatoria: 23/10/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de análise das respostas enviadas pelo pesquisador para as pendências apontadas no Parecer CONEP n.361.254.

Objetivo da Pesquisa:

Conforme apresentado no Parecer CONEP 361.254.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme apresentado no Parecer CONEP 361.254.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme apresentado no Parecer CONEP 361.254.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não se aplica.

Recomendações:

Não se aplica.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-HNAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5678 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 439.001

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1) Quanto ao orçamento, de acordo com o documento "Orçamento_LAM_20dez12.pdf", os kits a serem utilizados neste protocolo "" serão DOADOS PELO LABORATORIO ALERE" (destaque nosso). Mesmo que haja a doação da ferramenta em estudo para este protocolo, pode ser considerado conflito de interesses entre o fornecedor do kit doado e o resultado do estudo, que pode levar, inclusive, dependendo do resultado deste protocolo, à compra do material para detecção de tuberculose para a rede pública de saúde. Adicionalmente, foi inserida a informação que o custo do Alere CD4 Test e Determine TB LAM Ag é zero. Se esse kit fosse vendido no mercado, o mesmo não teria um custo zero. Solicitam-se esclarecimentos e as devidas adequações e inclusão no orçamento financeiro.

RESPOSTA: Os valores de mercado do aparelho Alere CD4 Test e de cada teste foram incluídos no novo orçamento, assim como o valor de cada teste Determine TB LAM Ag. Ressaltamos, entretanto que todos serão, de fato, doados pela Alere.

ANÁLISE: Pendência tendida

2) Quanto ao documento intitulado "Declaração sobre Apólice de Seguro_LAM.pdf", lê-se:

"Declaro que, após a aprovação ética e regulatória do protocolo supracitado, uma empresa de seguros será contratada para a COBERTURA de eventuais danos que os sujeitos de pesquisa venham a sofrer em consequência de sua participação no estudo." O seguro representa unicamente um instrumento financeiro do patrocinador para minimizar possíveis perdas econômicas advindas do pagamento relativo aos referidos tratamentos ou indenizações decorrentes de danos resultantes da participação do sujeito de pesquisa no estudo. O valor do seguro, em hipótese alguma, limita esses pagamentos. Solicita-se a retirada de qualquer referência a cobertura de seguro dado que o seguro é instrumento do patrocinador e, no caso em tela, nem sequer foi contratado.

RESPOSTA: O pesquisador principal, como responsável pelo projeto, garante que será fornecida assistência integral ao participante em caso de danos e injúrias decorrentes direta ou indiretamente da sua participação no estudo. De fato, entendemos que a assistência integral deve ser fornecida independente da contratação de uma apólice de seguro.

ANÁLISE: Pendência atendida.

3. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, versão de 20 de dezembro de 2012 modificado para o CEP-IPEC em 28 de janeiro de 2013:

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-NNAN - Unidade II - Ministério da Saúde	
Bairro: Asa Norte	CEP: 70.750-521
UF: DF	Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878	E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 439.001

a) Na página 3 de 6, lê-se: "Caso sejam comprovados quaisquer danos o (a) Sr (a) receberá uma indenização referente ao dano causado, CASO SEJA CONSTATADA UMA RELAÇÃO COM OS PROCEDIMENTOS DO ESTUDO." Também na página 23 de 28 do Protocolo (versão de 28 de Janeiro de 2013), lê-se: "CASO SEJAM COMPROVADOS QUAISQUER DANOS DIRETAMENTE RELACIONADOS aos procedimentos do estudo, os sujeitos serão indenizados.". Cabe ressaltar que a responsabilidade pela prestação de cuidados integrais de saúde pelo tempo que for necessário para o tratamento por lesões NÃO PODE ESTAR VINCULADA À COMPROVAÇÃO DE RELAÇÃO DIRETA com a participação no estudo devido à própria dificuldade prática em comprovar esse vínculo, assim sendo, danos diretos ou indiretos, imediatos ou tardios sofridos no decorrer da participação do sujeito devem ser acompanhados e tratados pelo pesquisador e seu patrocinador de forma incondicional. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Modificações realizadas. No TCLE, a frase "CASO SEJA CONSTATADA UMA RELAÇÃO COM OS PROCEDIMENTOS DO ESTUDO" foi retirada. No início deste mesmo parágrafo, na página 3, onde estava "CASO O (A) SR (A) TENHA ALGUM DANO DECORRENTE DE SUA PARTICIPAÇÃO NESSE ESTUDO, O (A) SR (A) RECEBERÁ SUPORTE DO MÉDICO RESPONSÁVEL..." foi substituída por "CASO O (A) SR (A) TENHA ALGUM DANO RELACIONADO DIRETA OU INDIRETAMENTE COM A SUA PARTICIPAÇÃO NESSE ESTUDO, O (A) SR (A) RECEBERÁ SUPORTE DO MÉDICO RESPONSÁVEL...". No protocolo onde estava "CASO SEJAM COMPROVADOS QUAISQUER DANOS DIRETAMENTE RELACIONADOS", agora lê se "CASO OCORRAM QUAISQUER DANOS RELACIONADOS DIRETAMENTE OU INDIRETAMENTE AOS PROCEDIMENTOS..."

ANÁLISE: Pendência atendida.

b) Na página 5 de 6, lê-se: "Nome da pessoa que realizou a discussão do TCLE (letra legível)". O Investigador Principal, ao assinar o TCLE, garante ao Sujeito de Pesquisa em seu nome e no do Patrocinador e da Instituição de Pesquisa, todos os direitos elencados no documento. Não cabe assinar o TCLE na qualidade de "PESSOA QUE REALIZOU A DISCUSSÃO DO TCLE". Assim sendo, solicita-se que seja identificado unicamente como PESQUISADOR.

RESPOSTA: Modificação realizada

ANÁLISE: Pendência atendida.

c) Na página 6 de 6, constam as informações do CEP. Solicita-se que sejam inclusos no TCLE uma breve descrição do que é o CEP, qual sua função no estudo e seu horário de funcionamento.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conepe@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 439.001

RESPOSTA: Modificação realizada. Ver última página do TCLE, em "COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA DO IPEC - FIOCRUZ".

ANÁLISE: Pendência atendida.

d) Solicita-se informar que a rubrica do sujeito de pesquisa, bem como do pesquisador, foi obtida nas demais folhas do TCLE, considerando-se a proteção do sujeito.

RESPOSTA: Modificação realizada. Antes das assinaturas, lê-se "SERÁ TAMBÉM NECESSÁRIO QUE O (A) SR (A) E O PESQUISADOR RUBRIQUEM TODAS AS PÁGINAS DESTE TERMO, ASSEGURANDO AINDA MAIS A SUA PROTEÇÃO".

ANÁLISE: Pendência atendida.

e) As páginas de assinaturas devem estar inseridas dentro do TCLE e não isoladamente, como se encontra. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Formatação corrigida.

ANÁLISE: Pendência atendida.

f) No início da pg. 4 do TCLE lê-se na primeira frase "O (a) Sr (a) será não terá despesas decorrentes da sua participação no estudo" onde consta a palavra "será" fora do contexto. Retirar a palavra do texto.

RESPOSTA: Palavra retirada.

ANÁLISE: Pendência atendida.

4-Consta no TCLE: "O (a) Sr (a) está sendo convidado a participar desse estudo porque sendo soropositivo para o HIV, tem uma chance grande de ter tuberculose agora ou desenvolver tuberculose após começar a tratar o HIV ou mesmo ter sintomas que parecem ser do HIV, mas podem ser da tuberculose". Tal afirmação pode causar desconforto no candidato a participante de pesquisa. Solicita-se substituir por "pessoas com HIV positivo e com a imunidade baixa têm um risco aumentado de desenvolver TUBERCULOSE".

RESPOSTA: Substituição feita conforme recomendado.

ANÁLISE: Pendência atendida.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-NNAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: coneq@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 439.001

Situação do Parecer:

Aprovado

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

BRASILIA, 31 de Outubro de 2013

Assinador por:

**Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)**

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br